

MARCELO FONSECA XAVIER

ESTUDO DA EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS  
EM COLUNAS RECHEADAS

FLORIANÓPOLIS  
2004

MARCELO FONSECA XAVIER

## ESTUDO DA EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS EM COLUNAS RECHEADAS

Dissertação apresentada como requisito  
parcial à obtenção do título de Mestre em  
Engenharia Química.

Curso de Pós Graduação em Engenharia  
Química.

Departamento de Engenharia Química.

Universidade Federal de Santa Catarina

Orientador: Prof. Dr. Marinho Bastos Quadri

Co-orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Mara Gabriela Novy  
Quadri

FLORIANÓPOLIS

2004

## SE CRIA ASSIM

Quem cria tem que durmi  
Pensar bem no passado  
De tudo ser bem lembrado  
Jirar o juízo como loco  
Ter a voz como um pipoco  
Ter o corpo com energia  
Ler o escudo do dia  
Conservar uma intenção  
Fazer uma oração  
Ao deus da puizia

Deve durmi muito sêdo  
Muito mais sêdo acordar  
Muito mais tarde sonhar  
Muito afoito i menos medo  
Muito onesto com segredo  
Muito menos guardar  
Muito mais revelar  
Pra ter mais soberania  
Muito pocas covardia  
Não durmi para sonhar

- Manoel Galdino, ceramista e poeta nordestino –

## *Dedicatória*

A todos aqueles que me ensinaram a sonhar e a tentar buscar um objetivo.  
Às pessoas mais experientes que me mostraram que a vida se repete e aos mais novos que me mostraram que todo dia vale a pena recomeçar de uma forma diferente.

À minha família que sempre esteve ao meu lado nos momentos em que desanimei.  
Aos meus amigos que pela proximidade me ajudaram a trazer de volta a alegria.

Para todos que estão distantes fica a minha lembrança pelos bons momentos e a esperança de um reencontro.

Aos meus 4 afilhados que um dia entenderão porque estive ausente nos primeiros passos das suas vidas.

Este trabalho é especialmente dedicado aos meus pais e irmãos que sempre me recebem com ternura.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina e a todos os seus professores pela possibilidade de aprimorar e reciclar os conceitos adquiridos na graduação em engenharia química da Universidade do Rio Grande e na minha atuação profissional na Bunge Fertilizantes.

Ao professor Marinho Bastos Quadri, pela orientação na realização deste trabalho, período durante o qual aprendi muito.

À professora Mara G. Novy Quadri, pela co-orientação e dedicação.

Aos professores Edna Regina Amante e Pedro Henrique Hermes de Araújo por participarem da banca examinadora e contribuírem para o enriquecimento do trabalho.

Ao professor Ricardo Antônio Francisco Machado e todos os colegas de pós-graduação e iniciação científica do Laboratório de Controle de Processos, onde realizei as simulações.

À todos os integrantes do Laboratório de Processamento de Alimentos e Laboratório de Sistemas Porosos, onde fiz os experimentos da pesquisa.

À CAPES pelo suporte financeiro para a pesquisa e realização deste trabalho.

Aos meus amigos que, por medo de esquecer alguém, nunca serão esquecidos na minha memória.

À Deisi que foi inspiração e motivação para iniciar este trabalho.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
2.1	FLAVONÓIDES.....	6
2.2	ANTOCIANINAS.....	9
2.2.1	Definição.....	9
2.2.2	Fontes de antocianina.....	11
2.2.3	Classificação.....	12
2.2.4	Pigmentos acilados.....	13
2.2.5	Equilíbrio químico em solução aquosa.....	14
2.2.6	Processos de extração de antocianinas.....	18
2.2.7	Separação.....	21
2.2.8	Caracterização por Espectroscopia.....	21
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1	REAGENTES.....	22
3.2	MATERIAIS E EQUIPAMENTOS.....	23
3.2.1	Preparo das matérias-primas para extração e regiões de análise.....	23
3.2.2	Ensaio de caracterização.....	24
3.2.3	pH.....	24
3.2.4	°Brix e índice de refração.....	25
3.2.5	Umidade.....	25
3.2.6	Açúcar redutor.....	26
3.2.7	Porosidade.....	26
3.2.8	Medida das dimensões do repolho picado.....	27
3.3	CALIBRAÇÃO DOS EQUIPAMENTOS.....	27
3.3.1	Micropipetas.....	28
3.3.2	Espectrofotômetro.....	29
3.4	PREPARO DAS SOLUÇÕES DE APOIO.....	31
3.4.1	Solução tampão McIlvaine.....	31
3.4.2	Preparo da solução de reagente DNS.....	32
3.4.3	Solvente de extração.....	32
3.5	TESTES EM BATELADA.....	33
3.6	TESTES EM COLUNA.....	35
3.6.1	Sistema de extração em coluna.....	36
3.6.2	Extração em coluna sem recirculação do solvente.....	41
3.6.3	Reabsorção de antocianinas sobre o repolho esgotado de corante.....	42
3.6.4	Extração em coluna com recirculação do solvente.....	42
3.7	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.....	43
3.7.1	Planejamento fracionário.....	44

3.7.2 Metodologia de superfícies de resposta (MSR).....	45
3.8 Ensaios Cinéticos.....	45
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	47
4.1 Ensaios de caracterização.....	47
4.1.1 Caracterização físico-química.....	47
4.1.2 Caracterização do leito de partículas do repolho roxo.....	48
4.2 TESTES EM BATELADA.....	50
4.2.1 pH.....	50
4.2.2 Ensaios de extração com cebola roxa.....	53
4.2.3 Ensaios com repolho roxo.....	58
4.3 TESTES EM COLUNA.....	65
4.3.1 Extração em coluna sem recirculação de solvente.....	65
4.3.2 Reabsorção.....	69
4.4 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.....	73
4.4.1 Planejamento fracionário.....	73
4.4.2 Análise estatística da triagem de variáveis.....	74
4.4.3 Metodologia de superfícies de resposta (MSR).....	75
4.4.4 Análise estatística da metodologia de superfície de resposta.....	76
5 Modelagem e simulação dos experimentos em batelada e em coluna.....	80
5.1 Relação de distribuição do corante entre as fases.....	80
5.1.1 Relação de potência.....	81
5.2 Ajuste da relação de distribuição do corante aos dados experimentais.....	82
5.3 Dinâmica do processo de extração.....	84
5.4 Modelagem da extração em batelada.....	84
5.4.1 Modelo transiente de difusão com resistência externa à partícula.....	85
5.4.2 Ajuste dos parâmetros do modelo em batelada e simulações.....	89
5.5 Modelagem da extração em coluna.....	92
5.5.1 Modelo matemático para coluna sem recirculação do solvente.....	92
5.5.2 Simulação e ajuste para o modelo de extração em coluna sem a recirculação do solvente.....	94
5.5.3 Modelo matemático para coluna com recirculação do solvente.....	99
5.5.4 Simulação e ajuste para o modelo de extração em coluna com recirculação do solvente.....	101
5.5.5 Comparação entre os processos de extração em batelada e em coluna com recirculação de solvente.....	106
6 CONCLUSÃO.....	110
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	113

## LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1	As seis classes principais de flavonóides.....	6
Figura 2.2	Interconversão dos principais grupos de flavonóides.....	7
Figura 2.3	Estrutura química das antocianinas.....	9
Figura 2.4	Equilíbrio das antocianinas em solução aquosa.....	15
Figura 2.5	Equilíbrio das formas AH <sup>+</sup> , A, B e C para malvidina 3-glicosídeo como função do pH.....	16
Figura 2.6	Equilíbrio das formas AH <sup>+</sup> , A, B e C para o cloreto de 4',7-dihidroxi flavilium como função do pH.....	17
Figura 2.7	Equilíbrio das formas AH <sup>+</sup> , A, B e C para o cloreto de 4'-metoxi-7-hidroxi flavilium como função do pH.....	17
Figura 2.8	Equilíbrio das formas AH <sup>+</sup> , A, B e C para o cloreto de apigenidina como função do pH.....	18
Figura 3.1	Regiões estudadas na caracterização físico-química da cebola roxa.....	23
Figura 3.2	Varredura de espectro para o vermelho congo.....	30
Figura 3.3	Curva padrão do corante vermelho congo.....	30
Figura 3.4	Curva padrão de sacarose para quantificar açúcares redutores.....	31
Figura 3.5	Fluxograma geral dos experimentos em batelada.....	35
Figura 3.6	Detalhes da coluna de extração.....	37
Figura 3.7	Visão geral do processo de extração contínua com recirculação de solvente.....	38
Figura 3.8	Junta para amostragem.....	39
Figura 3.9	Regulagem do indicador de vazão.....	40
Figura 4.1	Varredura de espectro nos ensaios de pH para o repolho roxo.....	52
Figura 4.2	Espectro de varredura visível para a amostra de extrato de cebola roxa.....	56
Figura 4.3	Dispersão observada nas leituras do extrato de cebola roxa no espectro visível.....	57
Figura 4.4	Extração com o álcool etílico.....	59
Figura 4.5	Extração com solução tampão McIlvaine.....	60
Figura 4.6	Extração com o ácido acético.....	60
Figura 4.7	Varredura de espectro para as diferentes massas testadas para o repolho roxo.....	63
Figura 4.8	Espectro de varredura para as concentrações de ácido acético testadas para o repolho roxo.....	64
Figura 4.9	Evolução da concentração de corante na saída da coluna e da massa de corante extraída do repolho roxo em função do tempo para a vazão de 4 L/h.....	66
Figura 4.10	Evolução da concentração de corante na saída da coluna e da massa de corante extraída do repolho roxo em função do tempo para a vazão de 1 L/h.....	66
Figura 4.11	Evolução da concentração de corante na saída da coluna e da massa de	

corante extraída do repolho roxo em função do tempo para a vazão de 0,3 L/h.....	67
Figura 4.12 Evolução da concentração de corante na saída da coluna e da massa de corante extraída do repolho roxo em função do tempo para a vazão de 0,3 L/h e sistema operando com duas colunas em série.....	68
Figura 4.13 Comparativo da evolução da fração de corante extraída em função do tempo para a vazão de 0,3 L/h com o sistema operando com uma coluna ou com duas colunas em série.....	68
Figura 4.14 Evolução da concentração na saída da coluna (mg/L).....	70
Figura 4.15 Readsorção do corante repolho inicialmente exaurido.....	71
Figura 4.16 Relação da distribuição do corante entre as fases sólida e líquida após 6 horas de readsorção.....	71
Figura 4.17 Superfície de concentração do corante no sobrenadante para os fatores pH e massa de repolho roxo.....	79
Figura 5.1 Gráfico dos valores previstos e observados para a relação de distribuição em batelada.....	83
Figura 5.2 Gráfico dos valores previstos e observados para a relação de distribuição em coluna.....	83
Figura 5.3 Simulação dos experimentos em batelada na extração com shaker.....	91
Figura 5.4 Simulação dos experimentos em batelada na extração com agitador magnético.....	91
Figura 5.5 Avaliação do coeficiente de dispersão hidrodinâmica.....	96
Figura 5.6 Simulação da extração em coluna sem recirculação do solvente, para a vazão de 0,3 L h <sup>-1</sup> , com uma coluna.....	99
Figura 5.7 Evolução da concentração na saída da coluna e no reservatório de solvente para a vazão de recirculação de 0,3 L h <sup>-1</sup> e MR/VS de 0,25 mg mL <sup>-1</sup> .....	102
Figura 5.8 Perfil de concentração na fase móvel no interior da coluna de extração para vazão de 0,3 L h <sup>-1</sup> e MR/VS de 0,25 mg mL <sup>-1</sup> .....	103
Figura 5.9 Perfil de concentração na fase móvel no interior da coluna de extração para vazão de 6,0 L h <sup>-1</sup> e MR/VS de 0,25 mg mL <sup>-1</sup> .....	103
Figura 5.10 Simulação da extração em coluna sem recirculação do solvente para a vazão de 6,0 L h <sup>-1</sup> , com diferentes razões MR/VS.....	104
Figura 5.11 Simulação da extração em coluna sem recirculação do solvente para MR/VS de 0,25 mg mL <sup>-1</sup> a diferentes vazões de recirculação.....	105
Figura 5.12 Comparativo da evolução da concentração de corante para extração em coluna e em batelada.....	109



## LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1	Principais classes e fontes de Flavonóides.....	8
Tabela 2.2	Antocianidinas encontradas na natureza.....	13
Tabela 2.3	Expressões das constantes de equilíbrio para o comportamento das antocianinas em solução aquosa.....	16
Tabela 3.1	Reagentes utilizados na pesquisa.....	22
Tabela 3.2	Ajuste das micropipetas.....	28
Tabela 3.3	Dosagem de fosfato dissódico e ácido cítrico.....	32
Tabela 3.4	Etapas da investigação em batelada.....	34
Tabela 3.5	Vazão associada aos indicadores de fluxo em regime permanente.....	40
Tabela 3.6	Etapas possíveis em um planejamento experimental.....	43
Tabela 3.7	Níveis testados na triagem de variáveis.....	44
Tabela 3.8	Níveis testados na metodologia de superfícies de resposta.....	45
Tabela 3.9	Experimentos cinéticos realizados.....	46
Tabela 4.1	Valores encontrados na caracterização físico-química da cebola roxa.....	48
Tabela 4.2	Caracterização do extrato de repolho roxo.....	48
Tabela 4.3	Valores de porosidade para diferentes composições do leito.....	49
Tabela 4.4	Caracterização dimensional das partículas de repolho .....	50
Tabela 4.5	Variação do comprimento de onda máximo e da absorbância com o pH.....	51
Tabela 4.6	Probabilidade para o teste de Duncan aplicado ao $\lambda_{\text{máx}}$ .....	52
Tabela 4.7	Teste de Duncan aplicado às variáveis pH e Absorbância.....	53
Tabela 4.8	Solventes testados na extração das antocianinas da cebola roxa.....	54
Tabela 4.9	Estudo da estabilidade do extrato de cebola roxa.....	55
Tabela 4.10	Solventes testados na extração das antocianinas do repolho roxo.....	59
Tabela 4.11	Teste de Duncan aplicado ao tipo de solvente.....	61
Tabela 4.12	Concentração de antocianinas em função da relação MR/VS.....	62
Tabela 4.13	Probabilidade para o teste de Duncan aplicado à relação MR/VS.....	62
Tabela 4.14	Relação entre a concentração de ácido acético e a concentração de corante obtida na extração.....	63
Tabela 4.15	Probabilidade do teste de Duncan para a concentração de ácido acético.....	64
Tabela 4.16	Cálculo da fração de corante extraída nos ensaios.....	69
Tabela 4.17	Comparativo entre as massas absorvidas no repolho e o percentual relativo à concentração de corante no repolho in natura.....	72
Tabela 4.18	Triagem das variáveis expressa em concentração no extrato líquido.....	73
Tabela 4.19	Intervalos de confiança dos efeitos CS, PH, VZ, VS e MR para a extração em coluna com recirculação.....	74
Tabela 4.20	Planejamento experimental para obtenção da superfície de resposta.....	76
Tabela 4.21	Análise de significância estatística dos efeitos.....	77
Tabela 4.22	Análise de variância do modelo.....	78
Tabela 5.1	Ajuste da relação de distribuição aos dados de equilíbrio em batelada.....	82
Tabela 5.2	Ajuste da relação de distribuição aos dados de equilíbrio em coluna.....	83

Tabela 5.3	Calculo das derivadas parciais e concentrações médias para a concentração de corante no interior da partícula.....	88
Tabela 5.4	Condições experimentais utilizadas na extração em batelada.....	89
Tabela 5.5	Parâmetros ajustados na extração com <i>shaker</i> .....	90
Tabela 5.6	Parâmetros ajustados na extração com agitador magnético.....	90
Tabela 5.7	Dados de entrada e parâmetros ajustados na extração em coluna sem recirculação do solvente.....	95
Tabela 5.8	Dados de entrada e parâmetros otimizados na simulação para a extração em coluna com recirculação do solvente.....	101
Tabela 5.9	Evolução da relação C/Ce nos processo em coluna e em batelada.....	107

## RESUMO

Os corantes naturais são usados como forma de manter a coloração dos alimentos. Frequentemente os corantes dos alimentos sofrem séria degradação durante o processamento, e a restituição da cor perdida é uma maneira de manter o aspecto de frescor dos alimentos. Conhecer, quantificar e monitorar o processo de extração das antocianinas do repolho roxo permitirá novos avanços para a obtenção de um processo rentável e viável.

Este trabalho tem como foco determinar as condições ótimas de extração em coluna das antocianinas do repolho roxo, traçando um paralelo com o processo de extração em batelada através do levantamento dos coeficientes de transferência de massa envolvidos nestes dois processos.

Os estudos preliminares em batelada serviram para indicar o pH ideal para a padronização das amostras e leitura espectrofotométrica, o tipo de solvente e a concentração a ser usada na extração das antocianinas do repolho roxo e a relação massa de repolho : volume de solvente que permite o melhor contato entre as fases.

De posse destas informações, foi construída uma coluna de vidro e realizada a extração das antocianinas a partir de um leito de repolho misturado com pérolas de vidro, de forma a se obter uma boa distribuição do fluxo de solvente e maior estabilidade estrutural do recheio da coluna.

Os testes em coluna de extração sem recirculação do solvente foram conduzidos com uma massa de 70 g de repolho roxo. O objetivo deste teste foi esgotar completamente a fonte de antocianinas e quantificar o máximo de antocianinas que pode ser extraída do tecido vegetal. O produto final (repolho exaurido de corante) serviu para testar a reabsorção de antocianinas em solução a partir de diferentes concentrações coletadas na saída da coluna durante a extração.

Através da técnica de planejamento experimental, os ensaios em coluna foram conduzidos para avaliar a influência da concentração de NaCl, pH, vazão de recirculação do solvente, volume do solvente e massa de repolho roxo. Os resultados mostraram que o pH, o volume de solvente e a massa de repolho roxo tiveram efeitos estatisticamente significantes, onde a condição ótima de operação encontrada para o processo foi pH 2,3, volume de solvente recirculado 0,83 L e massa de repolho roxo 50g.

Durante a reabsorção de antocianinas, o objetivo foi estabelecer uma relação de distribuição no equilíbrio para o corante entre as fases líquida e sólida, o que juntamente com os modelos de transferência de massa permite estudar o deslocamento das antocianinas entre o tecido vegetal e o solvente sob diferentes condições de operação.

Finalmente modelaram-se os processos de extração em batelada e em coluna. Para a avaliação dos modelos, além de critérios de estabilidade numérica e convergência, foram efetuados experimentos cinéticos em batelada e em coluna de extração. Nos ensaios em batelada foram testados diferentes níveis de agitação e em coluna diferentes vazões de recirculação. Também foi investigada nestes ensaios a relação massa de repolho:volume de solvente em quatro diferentes proporções: 0,15, 0,20, 0,25 e 0,30 g mL<sup>-1</sup>. A modelagem dos dados experimentais através do ajuste dos diferentes parâmetros envolvidos, permite quantificar e comparar a transferência de massa ocorrida em cada um dos processos.

Os resultados apresentados ao longo deste trabalho comprovaram que a extração de corante em coluna é um processo mais dinâmico e flexível do que a operação em batelada. Entre as vantagens encontradas podemos destacar a possibilidade de controlar independentemente as condições de processo para o leito de partículas e para o solvente de recirculação, a alta relação de contato sólido líquido e o menor volume ocupado que permite um melhor manuseio das matérias-primas, partículas, solventes e aditivos.

Para 360 minutos de extração em coluna, foi possível atingir 95% da concentração de equilíbrio, extraindo-se 12% a mais de massa corante do que o processo em batelada no mesmo período.

## **ABSTRACT**

Natural pigments are used to keep the coloration of foods. Frequently food pigments undergo serious degradation during process, and restoration of the lost color is a way to keep the freshness aspect of foods.

Anthocyanins are extracted from vegetables since long time, but new advances to guarantee a viable and profitable process needs knowledge, quantification and control of the operation conditions.

This work aims to determine the optimum conditions for anthocyanins extraction in fixed bed column filled with red cabbage, establishing comparisons with static extraction process and determining the mass transfer coefficients in these two processes.

Preliminary studies in batch indicated optimum pH value to quantify the anthocyanin contents in samples by espectrofotometric reading, the solvent type and concentration to be used in the anthocyanin extraction of the red cabbage and the relation cabbage mass: solvent volume that promotes the best contact between the phases.

A glass column was filled with cutled red cabagge and glass pearls in a fixed bed. Glass pearls were mixed to the vegetable to get a good distribution of the solvent flow of and bigger structural stability of the bed of the column.

The extraction tests in column without recirculation of the solvent were been done with a mass of 70 g of red cabbage. Anthocyanins was exhausted from the vegetable to quantify anthocyanins content. Reabsorption studies were carried out to evaluate the reversibility of the phenomenon.

Experimental planning was applied to column essays to evaluate the influences of the concentration of NaCl, pH, solvent flow rate, recirculated volume

of the extractive solution, and mass of red cabbage. Results showed that pH, solvent volume and red cabbage mass had effects statistically significant, where the optimum operation conditions found to the process were pH 2.3, recirculation volume of the solvent 0.83L and mass of red cabbage 50g.

Mass transfer models allowed studying the displacement of the anthocyanins between the vegetable and the solvent under different conditions in batch and column extraction. Criteria of numerical stability and convergence, kinetic experiments in batch and column extraction had been used. Different levels of agitation and flow rate were tested in bath and in column respectively. The influence of the ratio cabbage mass: solvent volume on the extraction was investigated. The modeling of the experimental data by fitting involved parameters, allowed to quantify and to compare the mass transference occurred in each extraction processes.

The results presented in this work showed proven that the dye extraction in column is a more dynamic and flexible process than the batch operation. The advantages observed are: the possibility independently to control the conditions of process for the particle in fixed bed and the solvent of recirculation, the high relation of liquid solid contact and the lesser volume allows better use of the raw materials, particles, solvent and additives.

For 360 minutes of extraction, column process extracted 95% of the equilibrium concentration, extracting 12% more mass of dye than in batch process at the same period.

## 1 INTRODUÇÃO

Os flavonóides são uma importante classe de compostos orgânicos de origem vegetal, divididos em seis subclasses: flavanas, flavanonas, flavonas, flavonóis e isoflavonóides. Existem hoje mais de 4000 tipos diferentes de flavonóides já identificados (PETERSON e DWYER, 1998).

As antocianinas são o mais importante grupo de pigmentos de origem vegetal, após a clorofila, visíveis a olho nu (HARBORNE e GRAYER, 1988). As antocianinas compõem o maior grupo de pigmentos solúveis em água do reino vegetal e são especialmente característicos das angiospermas, as quais sozinhas suprem nossa maior fonte de alimento vegetal. Nas plantas alimentícias, as antocianinas são bastante difundidas, ocorrendo ao menos em 27 famílias, 73 gêneros e em inúmeras espécies (BRIDLE e TIMBERLAKE, 1997).

Existe um grande campo para a pesquisa e desenvolvimento de corantes alimentícios a partir de fontes naturais, para diminuir (ou eliminar), gradativamente, a dependência do uso de corantes alimentícios sintéticos no processamento de alimentos (FRANCIS, 1989).

A principal desvantagem das antocianinas frente aos corantes sintéticos deve-se à mudança de coloração decorrente de reações químicas dos produtos alimentícios (ANDERSEN *et al.*, 1998). Durante a estocagem, as antocianinas sofrem modificações devido à sua sensibilidade ao efeito da temperatura, oxigênio, luz e ação enzimática (JACKMAN *et al.*, 1987, FRANCIS, 1989). Um problema particular é a influência do pH em sua coloração, devido às diferentes estruturas que as antocianinas apresentam em equilíbrio aquoso; também é característico o branqueamento das antocianinas devido à adição de bissulfito (IACOBUCCI e SWEENEY, 1983).

As antocianinas são moléculas polares devido à presença de grupos hidroxilas, carboxilas, metoxilas e glicosilas residuais ligados aos seus anéis aromáticos. Elas são mais solúveis em água do que em solventes não-polares,



sendo que esta característica auxilia na extração e separação das antocianinas, conforme descrito por HARBORNE e GRAYER (1988).

Os métodos convencionais de extração de pigmentos usualmente empregam ácido hidrocloreídrico diluído em metanol. Como o metanol apresenta características tóxicas, os pesquisadores que trabalham com alimentos preferem outros sistemas de extração. Dentre os solventes mais adequados para o uso na indústria de alimentos, encontra-se a razão volumétrica 80 de etanol para 20 de água, que é tão eficiente quanto o uso do metanol. Para as extrações aquosas, os melhores ácidos são o acético, o cítrico, o tartárico e o hidrocloreídrico. Alguns exemplos de estudos da extração das antocianinas com diferentes solventes são apresentados nos trabalhos de Harborne e Grayer (1988), Francis (1989) e Bridle e Timberlake (1997).

Ao longo deste trabalho foram verificadas diferentes condições de extração de antocianinas, tanto em batelada quanto em coluna. Os dados da extração em batelada foram úteis no dimensionamento do processo de extração em coluna.

O método básico de extração de pigmentos é a operação em batelada, onde ocorre a maceração da matéria-prima rica em antocianinas em contato com o solvente. Durante o tempo de residência do solvente no tanque ocorre a extração e, ao final de cada batelada, o líquido filtrado é purificado para obtenção do extrato.

Na operação em batelada a agitação pode melhorar a transferência de massa durante o processo de extração, repercutindo favoravelmente sobre o tempo necessário para que seja alcançada uma concentração economicamente viável. Processos mais demorados exigem equipamentos de maiores dimensões.

O processo em coluna utiliza melhor o solvente de extração. O sistema de extração em coluna é constituído por duas fases: uma fase imobilizada na

forma de um leito poroso (fonte de antocianinas) e uma fase móvel constituída pelo solvente, que permeia através da coluna por bombeamento.

Na extração em coluna o solvente pode ser recirculado com diferentes taxas de reciclo ou operar em passagem única. Como o solvente, para escoar, necessita atravessar o leito de partículas que contêm antocianinas, o contato com a fase imobilizada propicia o aparecimento de um perfil de concentração ao longo do recheio da coluna, caracterizado por incrementos graduais na extração. Após esgotamento do recheio, o mesmo precisa ser substituído.

O objetivo deste trabalho é investigar quais são as variáveis que influem de maneira sensível na extração das antocianinas do repolho roxo em coluna de escala laboratorial e otimizar as condições de extração. Para atender a este objetivo foram definidas etapas a serem seguidas. À medida que o nível de informação acumulada crescia, melhor direcionadas foram as ações no sentido de maximizar o desempenho do processo de extração do sistema estudado. Deseja-se ao longo deste trabalho demonstrar a viabilidade do processo de extração de antocianinas em colunas de fluxo contínuo para a produção industrial.

Nos ensaios em batelada foi verificado qual o tipo de matéria-prima mais adequada ao processamento: cebola roxa ou repolho roxo, também o pH apropriado para a leitura da concentração das amostras de antocianinas, o tipo e a concentração de solvente e o efeito da relação massa de repolho:volume de solvente. Estas informações coletadas formaram a base para dimensionamento do processo de extração contínua.

Durante ensaios em coluna foi efetuada a extração das antocianinas até o esgotamento total do repolho roxo, seguido pela reabsorção destas pelo tecido vegetal. Com estes experimentos foi possível estabelecer uma relação de distribuição no equilíbrio das antocianinas entre as fases sólida e líquida.

Para estudar e melhorar a extração de antocianinas segundo o processo contínuo em leito fixo foi realizada inicialmente uma triagem de variáveis e

posteriormente foi aplicada a metodologia de superfície de resposta para obter o modelo estatístico e levantar as superfícies de concentração do corante na fase líquida para diferentes condições de operação, determinando-se assim a região de operação que permite obter o melhor desempenho do processo (máxima concentração de antocianinas na fase líquida tendo em vista a massa de repolho roxo e o volume de solvente disponíveis na extração). Esta abordagem permite melhorar a relação custo:benefício para primeiramente tornar o processo economicamente viável e futuramente competitivo ao nível industrial.

A modelagem do fenômeno de extração em batelada e em coluna é importante, pois através da simulação dos processos são determinados os parâmetros de transferência de massa, sendo possível comparar a eficiência dos dois sistemas. Com os parâmetros de transporte determinados é possível propor melhorias e projetar sistemas mais eficientes de extração, corrigindo as deficiências encontradas nos projetos atuais. Esta é uma importante área da engenharia de processos.

No capítulo II desta dissertação abordamos a revisão bibliográfica. Primeiramente são apresentados os principais aspectos da estrutura química das antocianinas e as propriedades de equilíbrio em solução, a estabilidade dos compostos antociânicos e benefícios associados com a copigmentação das antocianinas. Posteriormente são analisados os principais métodos de extração de antocianinas, descrevendo as características de processo, os solventes empregados e os sistemas estudados.

No capítulo III, descrevemos os reagentes e os métodos de análise empregados. Também são descritos e analisados: os resultados da calibração dos equipamentos de medida e análise, o cuidado despendido na execução dos experimentos e o critério para a escolha da faixa de trabalho para cada variável de processo. O processo de extração em coluna é detalhado de forma completa. Os experimentos são descritos na ordem: maceração em batelada, extração em coluna, planejamento experimental para otimizar as condições de extração em

coluna e, finalmente, é apresentado o planejamento dos ensaios cinéticos para modelagem e quantificação dos parâmetros de transferência de massa em batelada e em coluna.

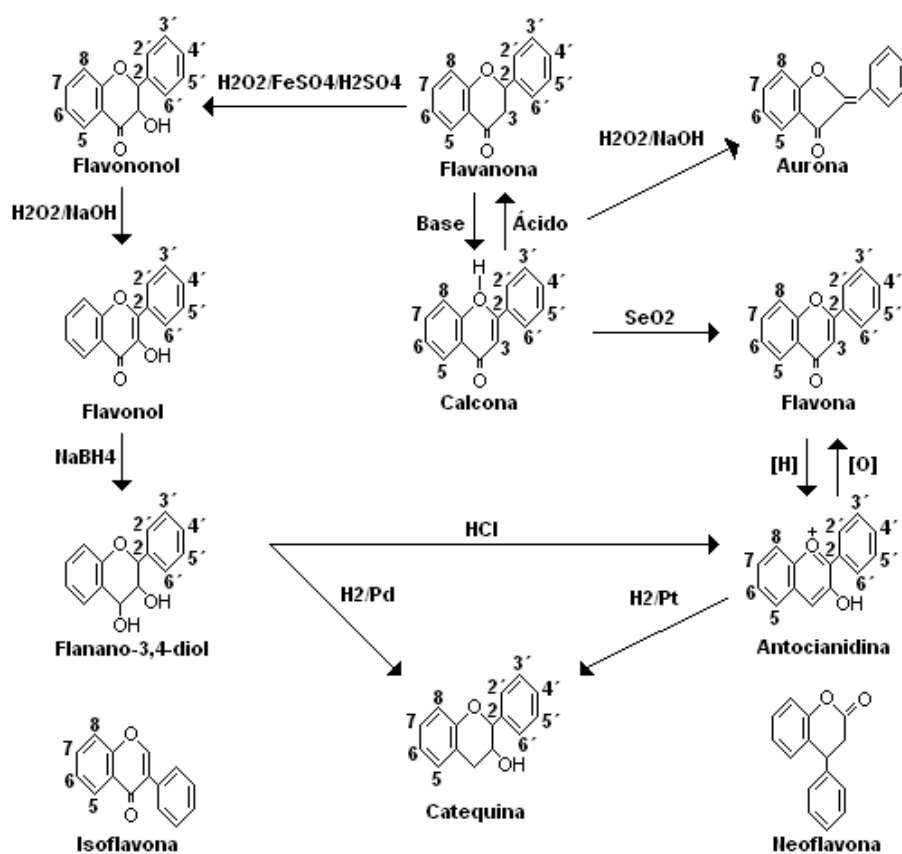
No capítulo IV, apresentamos e discutimos todos os resultados experimentais obtidos ao longo da pesquisa, os resultados da caracterização das matérias-primas, os resultados dos ensaios de extração em batelada, a triagem das variáveis e a superfície de resposta para os ensaios em coluna de vidro, os resultados obtidos nos ensaios de esgotamento do repolho roxo e de reabsorção de antocianinas. A dispersão dos resultados encontrada nos ensaios é mostrada na forma de gráficos com barras de erro. A análise estatística do modelo proposto no planejamento experimental complementa este capítulo.

O capítulo V contempla a modelagem do processo de extração em batelada e em coluna, onde são apresentados os modelos matemáticos e as hipóteses aplicadas para descrever o processo de extração. Os parâmetros dos modelos são ajustados aos resultados dos ensaios cinéticos, sendo que os resultados obtidos nestas simulações são apresentados e discutidos.

No capítulo VI, são resumidas as conclusões gerais de cada etapa deste estudo e delineadas sugestões para novas investigações que poderão vir a complementar os esforços aqui empreendidos.

**Figura 2.1– As seis classes principais de flavonóides (PETERSEN e DWYER, 1998)**

Os flavonóides são substâncias aromáticas com 15 átomos de carbono ( $C_{15}$ ) no seu esqueleto básico, caracterizados como sendo compostos fenólicos, agrupados na forma estrutural  $C_6-C_3-C_6$  (A-C-B), composta de dois anéis benzênicos A e B unidos por um anel cíclico C, formado pelo compartilhamento dos elétrons de três átomos de carbono e um de oxigênio, conforme identificado na molécula de flavanona na Fig. 2.1. O esqueleto  $C_{15}$  dos flavonóides é derivado do fenilpropano ( $C_6-C_3$ ) e três unidades de acetato ( $C_6$ ). Esta conformação permite que haja a interconversão entre eles, conforme descrito na Fig. 2.2, adaptada de LOPES *et al.*, (2000).



**Figura 2.2** - Interconversão dos principais grupos de flavonóides (LOPES *et al.*, 2000)

Durante a preparação e processamento dos alimentos, o conteúdo de flavonóides pode decrescer em até 50%, seja durante a lavagem com água ou

pela remoção de porções dos alimentos que são ricas em flavonóides. Ensaios *in vitro* e *in vivo* demonstraram que os flavonóides possuem atividade antioxidante e antimutagênica. Estudos controlados sugerem que os flavonóides podem reduzir o risco de doenças cardiovasculares. A absorção dos flavonóides varia de classe para classe e o seu metabolismo ainda é pouco conhecido (PETERSON e DWYER, 1998).

A Tab. 2.1 mostra as principais classes de flavonóides, assim como alguns dos seus principais representantes e características (LOPES *et al.*, 2000).

**Tabela 2.1** - Principais classes e fontes de Flavonóides.

Classes	Coloração	Exemplos	Comentários
Antocianinas	Azul, vermelha e violeta	Cianidina Delfinidina Peonidina	As antocianinas estão predominantemente em frutas e flores e provavelmente foram os primeiros flavonóides a serem isolados. São usadas como corantes.
Flavanas	Incolor	Catequina Epicatequina Luteoforol Procianidina Theaflavina	As flavanas são encontradas em frutas e chás (verdes ou pretos). Biflavanas são encontradas em frutas, lúpulo, nozes e bebidas. O sabor peculiar de algumas bebidas, frutas, chás e vinhos é devido, principalmente, à presença de biflavanas.
Flavanonas	Incolor para um amarelo pálido	Hesperidina Naringenina	As flavanonas são encontradas quase que exclusivamente em frutas cítricas.
Flavonas	Amarelo pálido	Apiagenina Luteolina Diosmetina Tangeretina Nobiletina	As flavonas também são encontradas quase que exclusivamente em frutas cítricas. Conferem o pigmento amarelo em flores. Os compostos mais comuns são a apianina e a luteolina.
Flavonóis	Amarelo pálido	Quercetina Rutina Mircetina Kaempferol	Os flavonóis estão presentes em diversas fontes, sendo predominantes em vegetais e frutas. A quercetina é o principal representante da classe.
Isoflavonóis	Incolor	Daidzeína Genisteína	Os isoflavanóis são encontrados em abundância nos legumes, particularmente na soja.

**Fonte:** (LOPES *et al.*, 2000)

A estrutura química dos flavonóides permite a ocorrência de um grande número de transformações químicas tais como: hidroxilação, metilação, acilação, glicosilação, entre outras, o que justifica a grande diversidade destes compostos (KOES *et al.*, 1994).

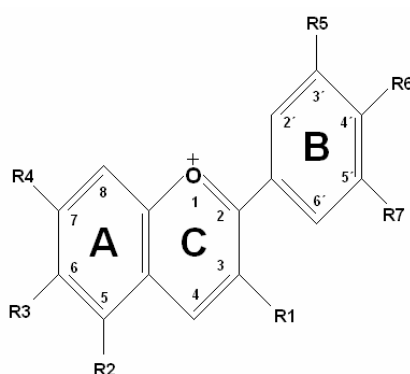
## 2.2 ANTOCIANINAS

### 5.1.1

#### 5.1.2 2.2.1 Definição

O termo antocianina é de origem grega (*anthos*, uma flor, e *kyanos*, azul escuro). Após a clorofila, as antocianinas são o mais importante grupo de pigmentos de origem vegetal visível a olho nu (HARBORNE e GRAYER, 1988). As antocianinas compõem o maior grupo de pigmentos solúveis em água do reino vegetal e são características das angiospermas, as quais provêm uma grande fonte de alimentos, ocorrendo ao menos em 27 famílias, 73 gêneros e em inúmeras espécies (BRIDLE e TIMBERLAKE, 1997).

As antocianinas são derivadas do benzopirano. As funções desempenhadas pelas antocianinas nas plantas são variadas: antioxidantes, proteção à ação da luz, mecanismo de defesa e função ecológica. As cores vivas e intensas que elas produzem têm um papel importante em vários mecanismos reprodutores das plantas, tais como: polinização e dispersão de sementes. Devido à comprovada ação inibitória da cianidina 3-glicosídeo no crescimento larval da *Heliothis virescens*, uma praga que ataca o tabaco, as antocianinas também podem ser consideradas como agentes de controle biológico. A estrutura química das antocianinas é baseada em uma estrutura policíclica de quinze carbonos, mostrada na Fig. 2.3 (LÓPEZ, *et al.*, 2000):



**Figura 2.3** - Estrutura química das antocianinas (LÓPEZ, *et al.*, 2000).



Existe uma grande demanda de pesquisa para desenvolver corantes alimentícios a partir de fontes naturais, para diminuir (ou eliminar), gradativamente, a dependência do uso de corantes alimentícios sintéticos no processamento de alimentos (FRANCIS, 1989).

As antocianinas são estudadas em todo o mundo como agentes de coloração em alimentos, pois elas são as responsáveis pelos tons de vermelho e azul de muitas frutas e vegetais (MAZZA e MINIATI, 1993), e conseqüentemente, provêm a cor atrativa de muitos sucos, vinhos, geléias e conservas.

O consumo de antocianinas como corantes alimentícios traz benefícios para a saúde humana, associados à ingestão destas substâncias (BRIDLE e TIMBERLAKE, 1997).

O consumo médio diário de antocianinas durante a alimentação nos Estados Unidos em 1971, foi estimado como sendo 215 mg/dia no verão e 180 mg/dia no inverno (KUHNAU, 1976). Em um estudo mais recente com 529 italianos, o consumo de antocianinas variou de 25-215 mg/(pessoa\*dia). A maior fonte de antocianinas foi o vinho tinto (ALBERT-FIDANZA *et al.*, 1996).

A principal desvantagem das antocianinas frente aos corantes sintéticos deve-se à mudança de coloração decorrente de reações químicas dos produtos alimentícios (ANDERSEN *et al.*, 1998). Durante a estocagem, as antocianinas sofrem modificações devido à sua sensibilidade ao efeito da temperatura, oxigênio, luz e ação enzimática (JACKMAN *et al.*, 1987, FRANCIS, 1989). Um problema particular é a influência do pH em seu comportamento, devido às diferentes estruturas que as antocianinas apresentam em equilíbrio aquoso, assim como a descoloração das antocianinas devido à adição de bissulfito (IACOBUCCI e SWEENEY, 1983).

As diferentes antocianinas presentes em cada alimento permitem adotá-las como um traçador para boas práticas de manufatura em processamento de

alimentos, detectando possíveis fontes de adulteração (frutas mais baratas) em sucos e geléias (BOYLES e WROLSTAD, 1993 e GORSEL *et al.*, 1992).

### **5.1.3 2.2.2 Fontes de antocianina**

Uma das melhores revisões sobre antocianinas como corantes naturais, foi produzido por Francis (1989). Ele descreve em detalhes, a extração e o processamento de pigmentos de uvas e outras fontes e os métodos para a sua avaliação e testes de estabilidade da cor. Dados em abundância sobre a maioria das plantas com potencial para suprir antocianinas são fornecidos por Mazza e Miniati (1993), Markakis (1982) e Francis (1993).

#### **5.1.3.1 2.2.2.1 Repolho Roxo (*Brassica oleracea*)**

Embora o repolho roxo seja uma planta comum na Europa, um grande volume das informações técnicas disponíveis sobre o extrato de repolho roxo provêm do Japão, onde foram concedidas várias patentes aos investigadores na década de 80, descrevendo a preparação e a aplicação do corante.

Mano *et al.*, (1990), descreve um processo de cromatografia em dois estágios do extrato em gel polivinil hidrofílico, seguido de cromatografia em polímero fenol-formaldeído ou poliamida (Duolite XAD 761) para obter um corante vermelho resistente à ação da luz e do calor.

O tratamento com resinas poliméricas (MANO *et al.*, 1988) e de troca iônica (TAMURA *et al.*, 1992) auxilia na remoção dos odores indesejáveis. A estabilização pode ser obtida com a adição de flavonóis, antioxidantes solúveis em água e fosfatos (WASHINO e MORIWAKI, 1990), pigmentos aniônicos (KOBAYASHI *et al.*, 1988), açúcares (ONISHI e KOTAKE, 1988) e pela copigmentação com flavonóides glicosídeos solúveis em água (NISHIMURA *et al.*, 1990).

Idaka (1987), Nakatani *et al.* (1987) e Ikeda *et al.* (1987), identificaram mais de 15 antocianinas do repolho roxo. Elas são baseadas na cianidina 3,5-diglicosídeo e 3-diglicosídeo-5-glicosídeo aciladas na posição 3 com ácidos ferúlico, p-coumárico e sinápico.

A acilação extensiva contribui para uma estabilidade e características de cor superior destes pigmentos de repolho roxo. Lachman *et al.* (1991) verificaram que a qualidade da cor para dois cultivares contendo 69 e 94 mg/100g, respectivamente (expressos como cianidina 3-glicosídeo), é geralmente mantida durante a estocagem dos repolhos a 4 °C por 84 dias. Dash *et al.* (2002) recomendaram o uso do corante de repolho roxo como indicador de pH para uso farmacêutico.

#### **5.1.4 2.2.3 Classificação**

A estrutura básica da antocianina C6-C3-C6 é fonte de uma infinidade de colorações produzidas pela sua combinação química com glicosídeos e/ou grupos acila e também pela sua interação com outras moléculas e/ou condições do meio (BROUILLIARD *et al.*, 1991).

HARBORNE e Grayer (1988) mencionaram a existência de 17 antocianidinas, com diferenças no número e posição dos grupos hidroxila e/ou grupos metil-eter, mas seis delas são as antocianidinas mais comuns que constituem este grupo de pigmentos, agrupadas na Tab 2.2.

Uma primeira classificação proposta para as antocianinas geradas a partir destas 17 estruturas básicas, é função do número de moléculas de açúcar adicionadas à molécula para obter novos compostos de antocianinas, que podem ser então classificadas como monosídeos, bisídeos, trisídeos. Os açúcares mais comumente encontrados nas antocianinas são, nesta ordem: glicose, raminose, xilose, galactose, arabinose e frutose. Muitas antocianinas possuem a capacidade de formar ligações do tipo éster entre açúcares e ácidos orgânicos, sendo estas

antocianinas chamadas antocianinas aciladas; os grupos acila que ocorrem com mais frequência são, nesta ordem, os ácidos: coumaérico, caféico, ferúlico, p-hidroxi-benzóico, sinápico, malônico, acético, succínico, oxálico e málico (FRANCIS, 1989).

**Tabela 2.2 - Antocianidinas encontradas na natureza.**

Substituídas com grupos hidroxilas		
Nome	Posição da substituição	Cores produzidas
Apigenidina	5, 7 e 4'	Laranja
Aurantidinina	3, 5, 6, 7 e 4'	Laranja
<u>Cianidina</u>	3, 5, 7, 3' e 4'	Magenta
<u>Delfinidina</u>	3, 5, 7, 3', 4' e 5'	Roxo, mauva e azul
6-Hidroxicianidina	3, 5, 6, 7, 3' e 4'	Vermelho
Luteolinidina	5, 7, 3' e 4'	Laranja
<u>Pelargonidina</u>	3, 5, 7 e 4'	Laranja, salmão
Triacetidina	5, 7, 3', 4' e 5'	Vermelho
Substituídas com grupos metil-éter		
Capensinidina	5, 3' e 5'	Azul e vermelho
Europenidina	5 e 3'	Azul e vermelho
Hursutidina	7, 3' e 5'	Azul e vermelho
<u>Malvidina</u>	3 e 5'	Roxo
5-Metilcianidina	5	Vermelho alaranjado
Peonidina	3'	Magenta
<u>Petunidina</u>	3'	Roxo
Pulquelidina	5	Azul e vermelho
Rosinidina	7 e 3'	vermelho

**Fonte:** HARBORNE e GRAYER (1988).

\* As antocianidinas que ocorrem com maior frequência na natureza estão sublinhadas na tabela.

### 5.1.5 2.2.4 Pigmentos acilados

Naturalmente a coloração das antocianinas é diretamente influenciada pela substituição dos grupos hidroxila e metoxila na molécula. Incrementos no número de grupos hidroxila tendem a tornar a coloração azulada. Na direção contrária, incrementos no número de grupos metoxilas aumentam a intensidade do vermelho (LÓPEZ *et al.*, 2000).

A presença de um ou mais grupos acila na molécula de antocianina inibe a hidrólise do cátion flavilium (vermelho) para a formar a base carbitol (incolor), permitindo a formação preferencial da base quinoidal (azul), resultando em pigmentos menos sensíveis às mudanças de pH (ou seja, eles mantêm a

coloração em meio levemente acidificado a neutro), segundo observado por Bridle e Timberlake (1997).

Dangles *et al.* (1993) quantificaram este efeito usando pelargonidina 3-soforosídio-5-glucosídio acilada com ácido cafeico. Os valores de  $pK_h$ , onde  $pK_h$  é a constante de hidratação, aumentaram com o aumento da acilação, confirmando que os pigmentos tornaram-se mais resistentes à reação de hidratação que leva a formação de carbitol (forma incolor) e portanto, intrinsecamente mais coloridos (para um dado valor de pH).

Os pigmentos acilados são mais estáveis do que seus análogos não acilados (SAITO *et al.*, 1995).

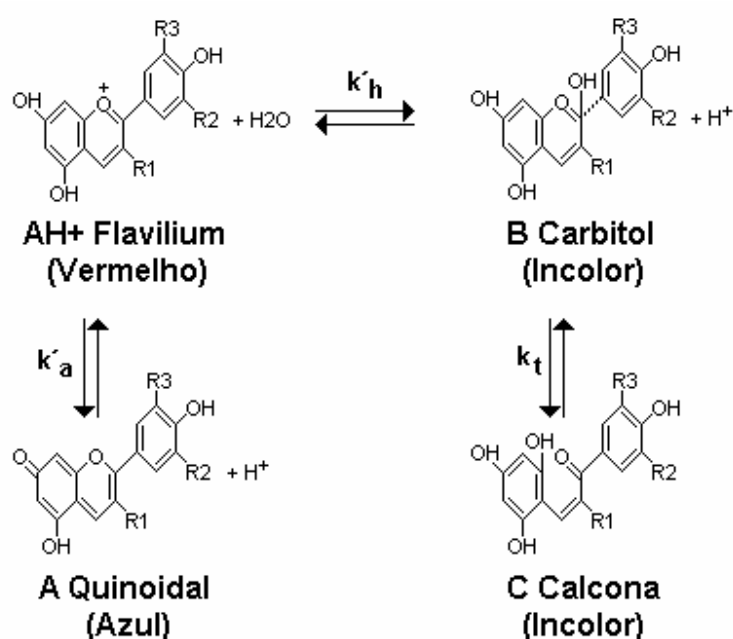
Com todos estes fatos em mente, não surpreende a gama de colorações observadas na natureza que é produzida a partir da estrutura das antocianinas (LÓPEZ *et al.*, 2000).

#### **5.1.6 2.2.5 Equilíbrio químico em solução aquosa**

Em soluções aquosas, as antocianinas se encontram comumente na forma de uma mistura de diferentes estruturas químicas em equilíbrio: cátion flavilium (vermelho), base anidra quinoidal (azul), pseudo-base carbitol (incolor), e calcona (incolor ou levemente amarela). A pH abaixo de 2, as antocianinas apresentam-se basicamente na forma catiônica; com o aumento do pH, ocorre uma rápida desprotonação para formar a base quinoidal. Em meio aquoso a hidratação do cátion flavilium leva ao equilíbrio entre a forma carbitol e calcona. À temperatura ambiente, e em meio levemente acidificado, o equilíbrio entre as formas carbitol e calcona é muito lento e leva horas para ser atingido. O aumento da temperatura desloca o equilíbrio na direção da formação da base calcona (HEREDIA *et al.*, 1998).

Soluções contendo pigmentos com pH acima de 7,0, gradualmente mudam a coloração de tonalidade azul para amarela, como um resultado indireto da formação de calcona C, via fissão do anel da anidrobases A (HRAZDINA, 1974).

As quatro formas de equilíbrio das antocianinas em solução são mostradas na Fig 2.4.



**Figura 2.4** - Equilíbrio das antocianinas em solução aquosa.

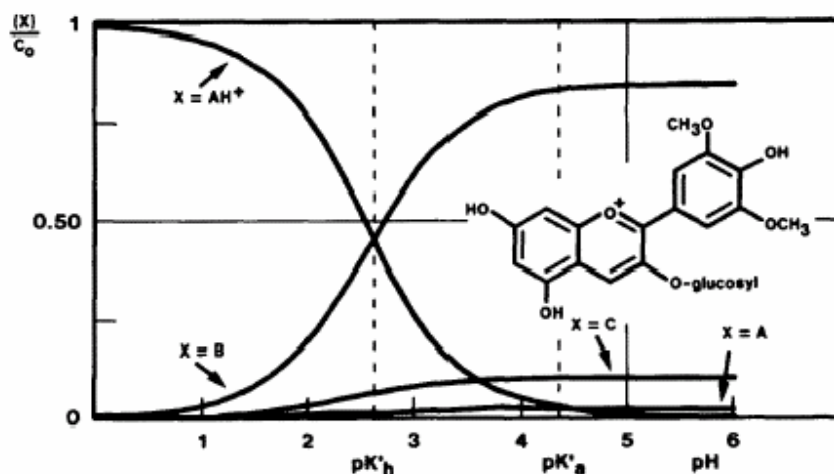
As constantes de equilíbrio associadas com as transformações que ocorrem nas antocianinas em solução aquosa são expressas na Tab. 2.3.

As quantidades relativas do cátion flavilium ( $AH^+$ ), base quinoidal (A), carbitol (B) e calcona (C) em equilíbrio variam com o pH e com a estrutura da antocianina. Para as antocianinas comuns 3-O-glicosídeo ou 3,5-di-O-glicosídeo, o principal produto em solução com o aumento de pH acima de 3 é a forma incolor carbitol (B), como mostrado na Fig. 2.5 para a malvidina 3-glicosídeo. Para o cloreto de 4',7-dihidroxi flavilium, o principal produto para valores acima de 3 é a forma incolor calcona (C), visto na Fig. 2.6. A forma predominante para o 4'-metoxi-7-hidroxi-flavilium quando os valores de pH são superiores a 4,7 é a forma

azul quinoidal (A), mostrado no gráfico da Fig. 2.7. No caso da apigenidina, em valores altos de pH, coexistem as várias formas quinoidal, calcona e carbitol em quantidades significativas, ilustrado na Fig. 2.8 (IACOBUCCI e SWEENEY, 1983).

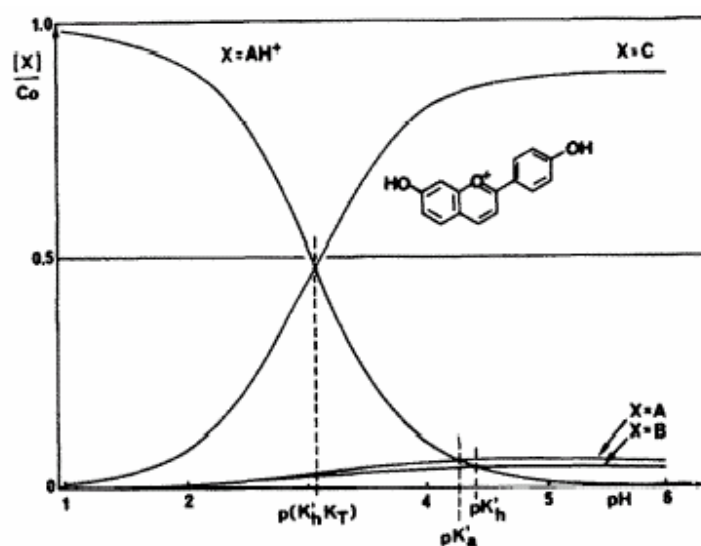
**Tabela 2.3** - Expressões das constantes de equilíbrio para o comportamento das antocianinas em solução aquosa.

Tipo de equilíbrio	Reação	Constante de equilíbrio
$\begin{array}{c} \xrightarrow{k_a} \\ \text{AH}^+ \rightarrow \text{A} + \text{H}^+ \\ \xleftarrow{k_{-a}} \\ \text{Ácido-base} \end{array}$	Desprotonação do cátion flavilium, formando base quinoidal	$k_a = \frac{[\text{A}] \cdot a_{\text{H}^+}}{[\text{AH}^+]}$
$\begin{array}{c} \xrightarrow{k_h} \\ \text{AH}^+ + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{B} + \text{H}^+ \\ \xleftarrow{k_{-h}} \\ \text{Hidratação} \end{array}$	Hidratação do cátion flavilium, formando carbitol	$k_h = \frac{[\text{B}] \cdot a_{\text{H}^+}}{[\text{AH}^+]}$
$\begin{array}{c} \xrightarrow{k_t} \\ \text{B} \rightarrow \text{C} \\ \xleftarrow{k_{-t}} \\ \text{Tautomeria em cadeia} \end{array}$	O carbitol tautomeriza para formar calcona	$k_t = \frac{[\text{C}]}{[\text{B}]}$



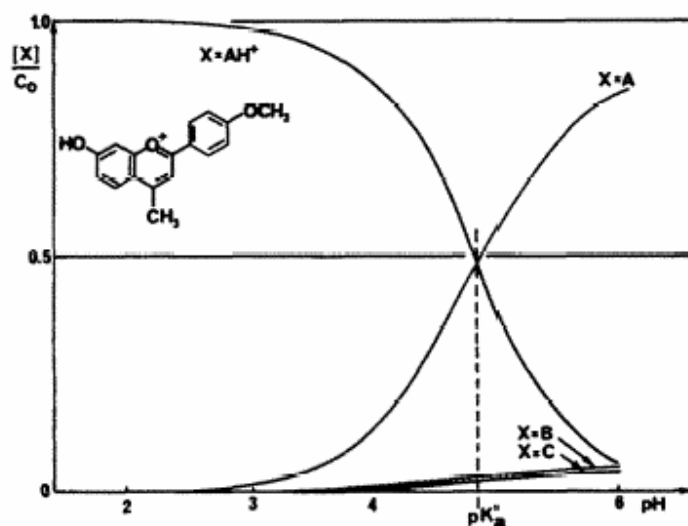
**Figura 2.5** - Equilíbrio das formas  $\text{AH}^+$ , A, B e C para malvidina 3-glicosídeo como função do pH.

**Fonte:** (BROUILLIARD e DELAPORTE, 1977).



**Figura 2.6** - Equilíbrio das formas  $\text{AH}^+$ , A, B e C para o cloreto de 4',7-dihidroxi flavilium como função do pH.

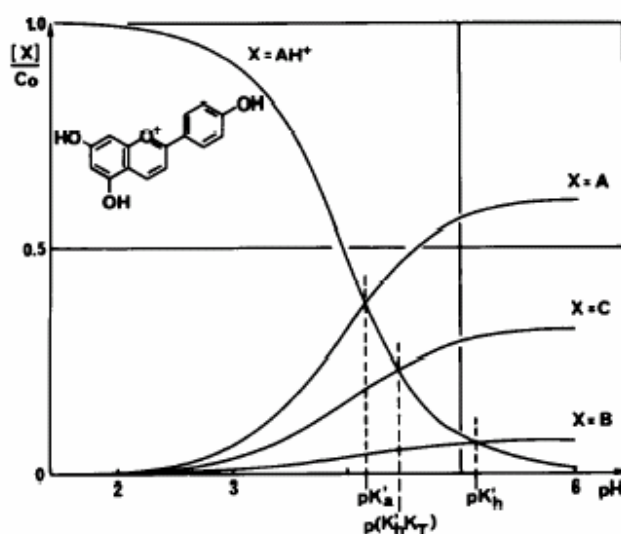
Fonte: (BROUILLIARD *et al.*, 1982).



**Figura 2.7** - Equilíbrio das formas  $\text{AH}^+$ , A, B e C para o cloreto de 4'-metoxi-7-hidroxi flavilium como função do pH.

Fonte: (BROUILLIARD *et al.*, 1982).





**Figura 2.8** - Equilíbrio das formas  $AH^+$ , A, B e C para o cloreto de apigenidina como função do pH.

Fonte: (BROUILLIARD *et al.*, 1982).

### 5.1.7 2.2.9 Processos de extração de antocianinas

As antocianinas são moléculas polares, em função dos grupos substituintes polares (hidroxilas, carboxilas e metoxilas) e glicosilas residuais ligados aos seus anéis aromáticos. Conseqüentemente, elas são mais solúveis em água do que em solventes não-polares, porém, dependendo das condições do meio, as antocianinas podem ser solúveis em éter. Estas características ajudam na extração e separação das antocianinas (HARBORNE, 1988).

Métodos convencionais de extração de pigmentos usualmente empregam ácido hidrocloreídrico diluído em metanol. Metanol contendo 0,001% HCl foi mais efetivo, porém o HCl é corrosivo e o metanol é tóxico para o ser humano; conseqüentemente, os pesquisadores que trabalham com alimentos preferem outros sistemas de extração (LOPES *et al.*, 2000).

Entre os outros solventes, encontramos a razão volumétrica 80 de etanol para 27 de água que se mostra tão eficiente o quanto metanol. É recomendado usar ácidos fracos (acético, fórmico, perclórico) durante as extrações e monitorar a acidez durante o processo. Com metanol, o ácido cítrico é o ácido orgânico mais efetivo, seguido pelos ácidos tartárico, fórmico, acético e propiônico, nesta ordem; com água, os melhores ácidos são ácido acético, cítrico, tartárico e hidrocloreídrico (BRIDLE e TIMBERLAKE 1997, FRANCIS 1989, HARBORNE e GRAYER 1988, SWAIN e BATE-SMITH, 1962).

O processo de extração de antocianinas de uvas em leito fixo, adotando metanol como solvente foi estudado por Mantell *et al.* (2002). Neste trabalho foram estudados os efeitos da temperatura de extração (40, 50 e 60° C) e do fluxo de recirculação (12, 17 e 22 mmol/min) sobre o rendimento do processo. O único efeito significativo detectado foi a interação temperatura-fluxo de recirculação e foi atribuído ao forte controle da etapa de transferência de massa no processo operando a baixas temperaturas. Os valores da difusividade interna no sólido variaram de 3,53 a 5,02 ( $D_m \times 10^{10} \text{ m}^2/\text{s}$ ).

Recentemente, um processo de extração aquosa para antocianinas de girassol foi avaliado. Foi demonstrado que a extração com água sulfurada (1000 ppm  $\text{SO}_2$ ) foi melhor do que a extração tradicional com etanol : ácido acético : água. Também foi demonstrado que 1 hora de extração foi suficiente para alcançar a extração completa dos pigmentos. Foi sugerido que uma das possíveis razões para a melhora na extração com  $\text{SO}_2$  está na interação das antocianinas com os íons  $\text{HSO}_3^-$ , os quais aumentam a solubilidade e difusão das antocianinas através da parede celular (GAO e MAZZA, 1996).

Durante o levantamento bibliográfico foram estudadas algumas patentes que tratam da extração de antocianinas, as quais são discutidas nos parágrafos seguintes.

Yokoyama e Ono (1981) desenvolveram um processo em batelada para a extração de antocianinas combinando altas temperaturas (85° C ou mais) atuando

por 30 minutos ou menos e usando soluções aquosas com conteúdo de sulfito de pelo menos 10000 ppm em termos de  $\text{SO}_2$ . Quando a concentração do íon sulfito no agente de extração é menor, fica impossível extrair o corante em um tempo curto pelo contato à alta temperatura sendo que a antocianina é degradada. Quando o contato é conduzido a temperaturas mais baixas, a cor não pode ser extraída com um alto rendimento, mesmo quando usada uma alta concentração de íon sulfito na solução aquosa.

Hilton et al. (1982) descrevem um processo para a estabilização e purificação de extratos de antocianina. O processo de purificação do extrato de antocianinas submete o extrato a ultrafiltração ou diálise usando uma membrana semipermeável, para separar os componentes de baixo peso molecular, restando os pigmentos de antocianina. O extrato concentrado é submetido à troca iônica para remover os íons presentes. O extrato final obtido possui grande estabilidade e reduzido potencial para o crescimento de leveduras.

Shrikhande (1984) descreve um processo em batelada para a extração de antocianinas com dióxido de enxofre, com um tratamento enzimático para reduzir os sólidos suspensos, adição de peróxido de hidrogênio para reduzir o conteúdo de dióxido de enxofre no extrato, acidificação do meio com ácido sulfúrico para pH 2,0 e recuperação das antocianinas em coluna recheada de resinas de troca iônica. A eluição é feita com etanol e o produto final concentrado por destilação.

Em uma patente publicada pelo INETI (1994), é descrito um processo de preparação de concentrados antociânicos para uso nas indústrias alimentar, farmacêutica e cosmética. O processo é caracterizado por usar água acidificada com ácido cítrico (pH 1,0 a 3,0) para extração, possuir uma etapa intermediária de tratamento enzimático (24 horas à temperatura ambiente) para redução do teor de açúcares, seguido de filtração e/ou centrifugação para eliminar as impurezas sólidas e concentração a pressão reduzida (secagem em *spray dryer*). O extrato purificado apresenta um teor de açúcares inferior a 1%.

### **5.1.8 2.2.10 Separação**

O procedimento inicial para a separação de antocianinas foi baseado na adsorção em papel cromatográfico ou outros adsorventes apropriados (SWAIN e BATE-SMITH, 1962).

Atualmente, a cromatografia de camada delgada é grandemente utilizada, porque a técnica tem demonstrado inovações contínuas e ainda mantém suas vantagens principais: praticidade e custo, (LÓPEZ *et al.*, 2000).

Entretanto, sem dúvida, o principal desenvolvimento para a pesquisa com antocianinas é a introdução do HPLC para sua separação e quantificação (HARBORNE, 1988, HARBORNE e GRAYER, 1988).

### **5.1.9 2.2.11 Caracterização por Espectroscopia**

Em geral, a cor é avaliada por espectrometria. Pigmentos isolados foram estudados pela espectroscopia UV-visível. Todos os flavonóides mostram alta absorbância na faixa de 250 a 270 nm (região UV) e particularmente as antocianinas têm uma intensa absorção na faixa de 520 a 560 nm (região visível). Isto têm sugerido que a absorção UV pode ser atribuída principalmente ao anel A, enquanto que a absorção visível deve-se ao pirano e ao anel B, conforme a Fig. 2.3. A absorção na região visível é a melhor ferramenta para observar o efeito de copigmentação: os espectros visíveis das antocianinas mostram um efeito hipercrômico, aumentando a intensidade do máximo observado e resultando em amostras mais coloridas, acompanhado de um deslocamento batocrômico (deslocamento da posição do máximo de absorbância para um comprimento de onda menor) causado pelo efeito de solvatação (BROUILLIARD, 1983 e BROUILLIARD *et al.*, 1993).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Neste capítulo serão descritos os principais procedimentos, equipamentos e materiais utilizados ao longo da pesquisa. Primeiramente será apresentado o processo de investigação em batelada, seguido pelos experimentos em coluna. A técnica de planejamento experimental conduz a estratégia de investigação, ao passo que os resultados experimentais são comparados entre si pelo tratamento estatístico dos dados.

#### 3.1 REAGENTES

Os reagentes utilizados nos vários ensaios foram todos de grau analítico, uma garantia de que estes reagentes são produtos de qualidade, com baixo teor de contaminantes e próprios para o uso em análises químicas. A Tab. 3.1 identifica os principais reagentes utilizados na pesquisa.

**Tabela 3.1** - Reagentes utilizados na pesquisa.

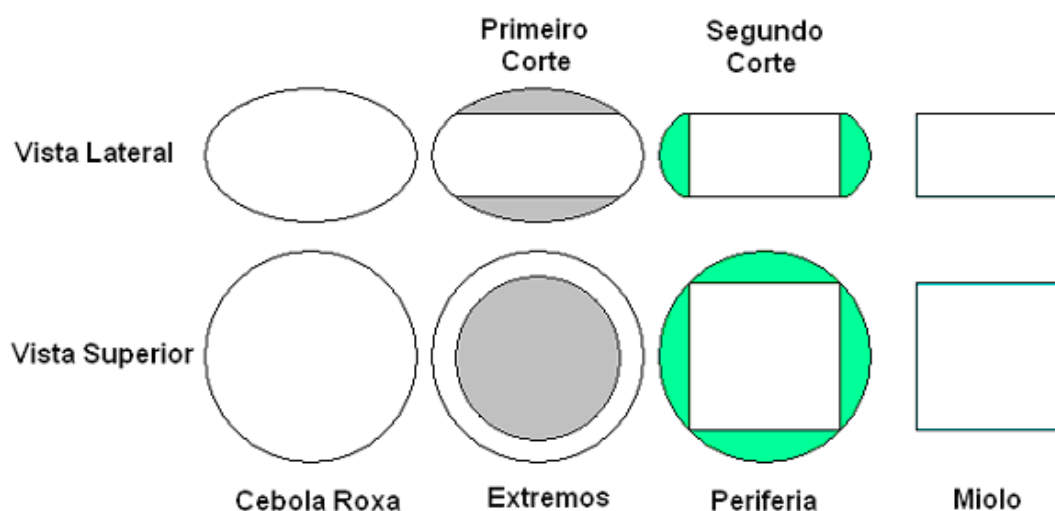
Reagente	Finalidade
Ácido cítrico	Testado como possível solvente para extração; Utilizado no preparo de solução tampão de MacIlvaine.
Fosfato dissódico	Utilizado no preparo de solução tampão de MacIlvaine.
Ácido acético	Testado como possível solvente para extração.
Álcool etílico	Testado como possível solvente para extração.
Cloreto de sódio	Utilizado para adicionar força iônica ao solvente.
Metabisulfito de sódio	Utilizado como agente anti-oxidante para atenuar a degradação das antocianinas nos ensaios.
Tampão pH 4,0	Utilizado na calibração do pHmetro.
Tampão pH 7,0	Utilizado na calibração do pHmetro.
Vermelho congo	Utilizado como padrão estável para quantificar o teor de antocianinas nos extratos.
Bicarbonato de sódio	Utilizado como solvente na preparação da curva padrão de vermelho congo.
Hidróxido de sódio	Utilizado na correção pH; Utilizado no preparo do reagente DNS.
Ácido 3-5 dinitrosalicílico	Utilizado no preparo do reagente DNS.
Tartarato duplo de sódio e potássio	Utilizado no preparo do reagente DNS.

## 3.2 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

Nesta seção, descreve-se como foram preparadas as matérias-primas para os ensaios de extração, a aferição dos equipamentos, a quantificação das características físicas e físico-químicas das amostras e o preparo das principais soluções consumidas ao longo da experimentação investigativa.

### 3.2.1 Preparo das matérias-primas para extração e regiões de análise

Para as análises da cebola roxa, foram definidas três regiões de estudo: extremos, periferia e miolo, conforme ilustrado na Fig. 3.1.



**Figura 3.1** – Regiões estudadas na caracterização físico-química da cebola roxa.

Cada uma das regiões ao final dos cortes contém aproximadamente 33% da massa da cebola roxa inicial.

Para o repolho roxo, o procedimento de preparo das amostras para a caracterização foi o seguinte:

- Primeiramente, o repolho roxo foi completamente desfolhado, desprezando-se apenas as folhas menores do interior do vegetal e o talo central;

- Em cada folha, retirou-se a nervura central;
- As folhas foram então cortadas com dois cortes transversais de aproximadamente 1 cm.

O repolho roxo apresenta regiões lisas na parte interna e maior rugosidade na parte externa de cada camada que reveste o vegetal. Ao final do processo de corte, obtém-se partículas de repolho na forma de pequenas placas delgadas para a região lisa das folhas e partículas rugosas devido às nervuras presentes na parte externa das folhas. Para a realização dos ensaios físico-químicos foi separado o material proveniente da parte lisa e da parte rugosa.

### **3.2.2 Ensaios de caracterização**

Os ensaios de caracterização envolvem a determinação das propriedades físicas e físico-químicas do material estudado (primeiramente cebola roxa e posteriormente repolho roxo).

### **3.2.3 pH**

O pH é a medida do potencial de hidrogênio das soluções aquosas. Para executar as leituras de pH, as soluções devem estar sob agitação e o pHmetro devidamente calibrado. O pHmetro utilizado nos ensaios foi o modelo Q400A da marca Quimis.

Para medir e monitorar a evolução do pH em solução aquosa, o pHmetro deve estar calibrado frente a duas soluções tampão de pH (4,0 e 7,0). Este ajuste é adequado para operação em pH ácido. O procedimento de calibração é simples e segue as orientações contidas no manual do fabricante. Por se tratar de uma leitura direta, não é necessária a realização de nenhum cálculo e nem proceder com diluições para adequar a faixa de leitura do equipamento.

### 3.2.4 °Brix e índice de refração

O refratômetro mede o índice de refração e o °Brix das amostras líquidas, segundo o ângulo de desvio apresentado pela luz que atravessa a amostra. Para zerar o refratômetro é utilizada como referência água destilada na temperatura de 20°C.

°Brix é por definição, a quantidade, em gramas, de sólidos solúveis existentes em 100 mL de solução. O Índice de refração é uma propriedade que a solução tem de desviar a direção dos raios luminosos.

A leitura da amostra é feita diretamente no prisma do refratômetro Abbe-BL fabricado pela Bausch & Lomb e o resultado é expresso em uma escala graduada que relaciona diretamente o resultado do experimento em °Brix ou índice de refração. Para realizar as medições é necessário primeiramente zerar a escala do aparelho usando água destilada.

### 3.2.5 Umidade

O teor de umidade da amostra expressa a quantidade em massa de água contida na unidade de massa do sólido. A umidade pode ser expressa em base seca (massa de água evaporada / massa de sólido seco) ou base úmida (massa de água evaporada / massa de sólido úmido).

O procedimento para a determinação é gravimétrico, bastando que se proceda à secagem do sólido úmido em estufa de esterilização por 24 horas a 105 °C. A razão entre a massa de água evaporada do sólido durante a secagem e a massa de amostra (inicial ou final) representa a umidade da amostra.



### 3.2.6 Açúcar Redutor

O teor de açúcar redutor é importante, pois quando a amostra apresenta um alto teor de açúcares, intensifica-se a ação de microorganismos que crescem consumindo este substrato, gerando-se a degradação microbiológica do produto.

A determinação é feita por método espectrofotométrico, utilizando a curva de calibração de glicose para expressar o teor de açúcares redutores na amostra.

A maior atenção deve ser dada ao manuseio do reagente DNS, que é cancerígeno e deve ser mantido resfriado para evitar a degradação.

A leitura da amostra é executada no espectrofotômetro ajustado para o comprimento de onda de 540 nm, utilizando como branco a água destilada.

Nos ensaios foi utilizado o espectrofotômetro Spectronic Unicam modelo Genesys10Vis.

### 3.2.7 Porosidade

A medida da fração de volume de espaços vazios em relação ao volume total ocupado por determinado material é a expressão da porosidade. Conhecer a porosidade de um material ou leito de recheio em uma coluna de extração é importante, pois é através dos espaços vazios que ocorre o escoamento do solvente.

O procedimento envolve a determinação da massa específica aparente do leito (razão entre a massa de amostra do leito e o volume ocupado pelo mesmo em uma proveta), a determinação da massa específica das partículas sólidas (razão entre a massa das partículas sólidas e o volume ocupado pelas mesmas em um picnômetro).

De posse da massa específica aparente do leito e da massa específica das partículas sólidas, a determinação da porosidade do leito é expressa pela Eq. 3.1.

$$\varepsilon_{\text{leito}} = 1 - \frac{\rho_{\text{ap}}}{\rho_s} \quad (3.1)$$

onde:  $\varepsilon_{\text{leito}}$  = porosidade do leito;  
 $\rho_{\text{ap}}$  = massa específica do leito;  
 $\rho_s$  = massa específica das partículas sólidas.

### 3.2.8 Medida das dimensões do repolho picado

A caracterização das três dimensões cartesianas ( $\Delta x$ ,  $\Delta y$ , e  $\Delta z$ ), envolve a consideração de que as partículas de repolho roxo picado podem ser descritas por placas planas.

Foram consideradas neste estudo duas regiões: lisa e rugosa, caracterizadas pela ausência ou presença de nervuras na parcela do vegetal a ser picada.

A caracterização das dimensões das partículas é importante uma vez que estas podem influenciar diretamente no processo de extração do corante.

## 3.3 CALIBRAÇÃO DOS EQUIPAMENTOS

A calibração dos equipamentos representa uma etapa importante do procedimento de pesquisa, pois permite estabelecer a real indicação dos equipamentos de laboratório frente a materiais e procedimentos de referência, garantido a utilização dos mesmos em condições operacionais que assegurassem a confiabilidade e precisão dos dados experimentais, através dos ajustes necessários para corrigir eventuais desvios encontrados na leitura das amostras

de referência, antes da utilização dos mesmos para coletar informações experimentais. Os equipamentos calibrados ao longo deste estudo foram: as micropipetas, o espectrofotômetro e o indicador de vazão da coluna de extração contínua.

### 3.3.1 Micropipetas

Para a calibração das micropipetas fabricadas pela Exacta cujas capacidades eram: 0,00-0,02 mL, 0,02-0,10 mL e de 0,10-1,00 mL foi utilizada água destilada e comparado o volume de água efetivamente liberado a cada utilização contra a regulação da micropipeta.

Os ajustes quando necessários foram executados de acordo com o manual do fabricante do equipamento. Para aceitação ou rejeição do ajuste foi calculado o erro médio associado à leitura, e comparado este valor com a especificação do fabricante para a faixa de leitura.

Durante o ensaio foi monitorada a temperatura ambiente para correção da densidade da água destilada e cálculo preciso do volume coletado em cada repetição. Os valores para as três micropipetas utilizadas na pesquisa são apresentados na Tab. 3.2, para a condição inicial e após o ajuste de cada equipamento.

**Tabela 3.2 – Ajuste das micropipetas**

Equipamento	Volume de teste(mL)	Condição(média ± desvio padrão, repetições = 10)	
		Sem ajuste	Com ajuste
Micropipeta 0 – 0,020 ml	0,005	0,0053 ± 0,0014	Não foi necessário fazer ajuste
	0,010	0,0101 ± 0,0009	
	0,020	0,0198 ± 0,0010	
	0,020	0,0174 ± 0,0027	
Micropipeta 0,020 – 0,100 ml	0,050	0,0484 ± 0,0011	0,0205 ± 0,0004
	0,100	0,0974 ± 0,0006	0,0501 ± 0,0018
	0,100	0,1104 ± 0,0031	0,1005 ± 0,0008
	0,100	0,1104 ± 0,0031	0,1094 ± 0,0031
Micropipeta 0,100 – 1,000 ml	0,500	0,5114 ± 0,0028	0,4995 ± 0,0016
	1,000	1,0163 ± 0,0018	1,0089 ± 0,0016

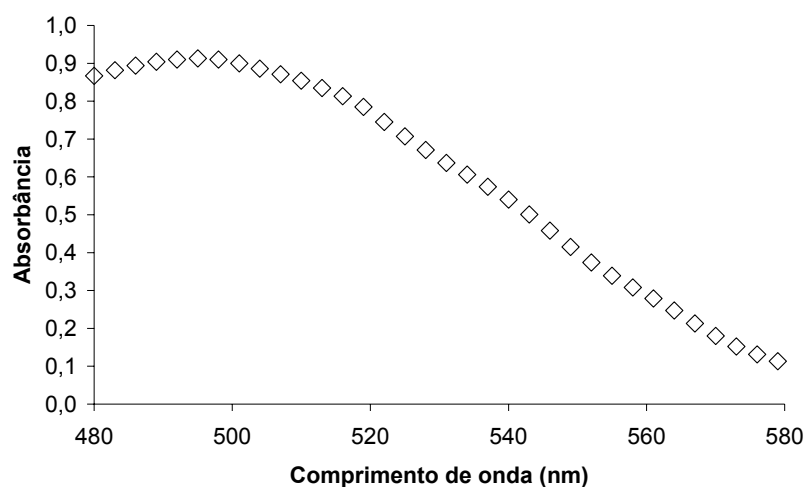
### 3.3.2 Espectrofotômetro

O espectrofotômetro mede a absorvância de uma amostra líquida a vários comprimentos de onda no espectro visível. A concentração da solução é determinada utilizando-se a lei de Lambert-Beer, que relaciona diretamente a absorvância e a concentração. A obtenção da curva padrão prevê a linearização da absorvância lida a partir de uma solução padronizada diluída em diferentes concentrações com auxílio de um branco. Este branco serve de linha de base para leitura das amostras.

Para determinar o comprimento de onda no qual a amostra deve ser lida é necessário o conhecimento da posição em que ocorre o máximo de absorvância, que pode ser obtido na literatura ou pela realização da varredura de espectro para a amostra diluída.

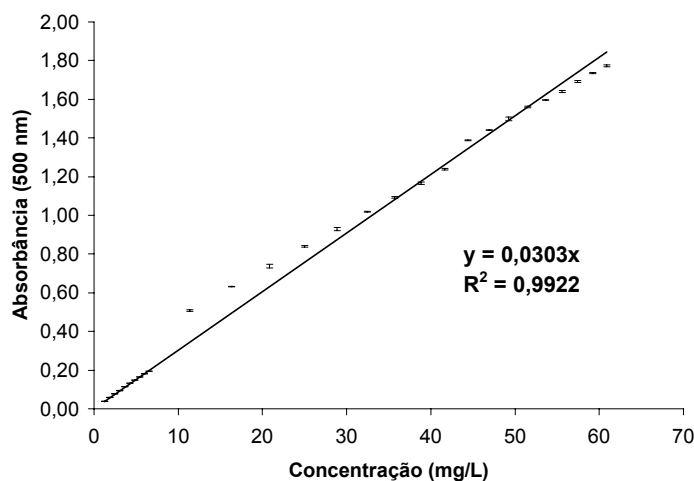
A calibração do espectrofotômetro (curva padrão) teve como referência o indicador inorgânico vermelho congo. Este material foi escolhido pela melhor estabilidade frente a agentes externos, tais como luz, calor, oxigênio, entre outros, se comparada à estabilidade apresentada pelas antocianinas de extratos comerciais de corantes naturais. A obtenção da curva padrão permite monitorar a concentração de antocianinas extraídas do extrato vegetal e a partir destes dados foi possível quantificar e comparar a eficiência de cada tratamento adotado nos estudos de extração.

A varredura de espectro na região visível para os comprimentos de onda de 480 a 580 nm indicou a presença de um máximo de absorvância em 495 nm, conforme pode ser visto na Fig. 3.2. Na obtenção da curva padrão de vermelho congo foi adotado para a leitura das soluções o comprimento de onda de 500 nm. A diferença de intensidade para a absorvância observada a 495 nm foi de 1,4%, o que é considerada desprezível.



**Figura 3.2** - Varredura de espectro para o vermelho congo.

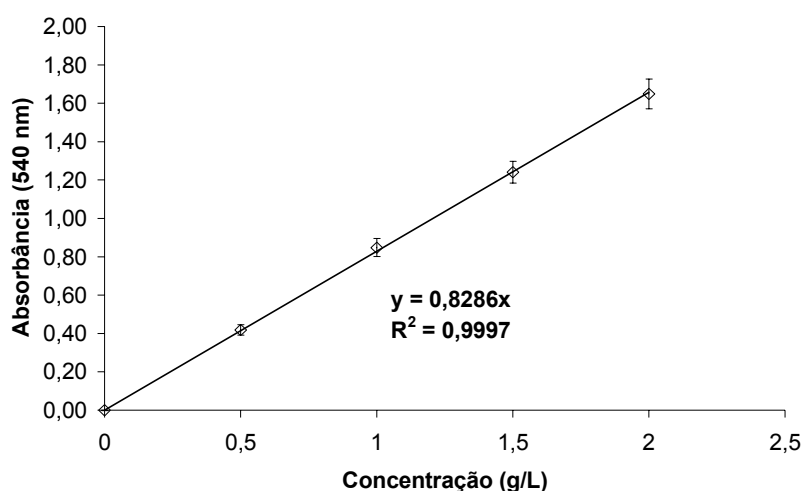
Os pontos da curva padrão foram lidos neste comprimento de onda e o valor do coeficiente de correlação ( $R^2$ ) obtido foi de 0,9922. A curva padrão relaciona a absorbância da amostra lida com a concentração relativa em vermelho congo expressa como mg/L. A equação da curva padrão, bem como a dispersão das repetições realizadas é apresentada na Fig. 3.3.



**Figura 3.3** – Curva padrão do corante vermelho congo.

Para as análises do teor de açúcares redutores, a referência é a sacarose e as soluções padrão com concentrações diferentes de sacarose são lidas em 540 nm. O valor de  $R^2$  obtido neste conjunto de dados foi de 0,9997.

A equação da curva padrão, assim como a dispersão encontrada para as leituras realizadas é exibida na Fig. 3.4.



**Figura 3.4** – Curva padrão de sacarose para quantificar açúcares redutores.

## 3.4 PREPARO DAS SOLUÇÕES DE APOIO

### 3.4.1 Solução tampão Mcllvaine

A solução tampão de Mcllvaine é preparada a partir da mistura de ácido cítrico ( $C_6H_8O_7$ ) 0,1 M e fosfato dissódico ( $Na_2HPO_4$ ) 0,1 M. A utilidade da solução tampão é regular o pH do meio, mantendo o mesmo estável durante a execução dos experimentos.

A Tab. 3.3 apresenta a dosagem ideal de cada solução para obter a solução tampão.

Ajustes subseqüentes podem ser efetuados com o auxílio de um pHmetro devidamente calibrado para a região de pH do tampão a ser preparado.

**Tabela 3.3** - Dosagem de fosfato dissódico e ácido cítrico.

PH	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 0,1 M (ml)	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub> 0,1 M (ml)	pH	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 0,1 M (ml)	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub> 0,1 M (ml)
2,2	0,40	19,60	5,2	10,72	9,28
2,4	1,24	18,76	5,4	11,15	8,85
2,6	2,18	17,82	5,6	11,60	8,40
2,8	3,17	16,83	5,8	12,09	7,91
3,0	4,11	15,89	6,0	12,63	7,37
3,2	4,94	15,06	6,2	13,22	6,78
3,4	5,70	14,30	6,4	13,85	6,15
3,6	6,44	13,56	6,6	14,55	5,45
3,8	7,10	12,90	6,8	15,45	4,55
4,0	7,71	12,29	7,0	16,47	3,53
4,2	8,28	11,72	7,2	17,39	2,61
4,4	8,82	11,18	7,4	18,17	1,83
4,6	9,35	10,65	7,6	18,73	1,27
4,8	9,86	10,14	7,8	19,15	0,85
5,0	10,30	9,70	8,0	19,45	0,55

**Fonte:** Morita e Assumpção (1995).

### 3.4.2 Preparo da solução de reagente DNS

O reagente DNS é usado na quantificação do teor de açúcares redutores e é preparado a partir de tartarato duplo de sódio e potássio, hidróxido de sódio e ácido 3-5 dinitrosalisílico.

O produto é cancerígeno e requer cuidados especiais de manuseio com o uso de equipamentos de proteção individual adequados.

### 3.4.3 Solvente de extração

O solvente escolhido para a execução dos testes em batelada foi o ácido acético em diferentes concentrações (% em volume). Para auxiliar na conservação das amostras foi adicionado 0,1 g/L de metabissulfito de sódio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), um

antioxidante que auxilia na conservação das antocianinas extraídas do material vegetal.

A dosagem do solvente foi feita com proveta graduada de 500 ml, transferindo o líquido para um recipiente de mistura, seguida da avolumação pela adição de água destilada. O ajuste do pH foi realizado pela adição de NaOH 10% em peso e dosado 0,1 g/L de metabissulfito de sódio. Nos ensaios onde a concentração de sal foi testada também foi adicionada a quantidade apropriada de NaCl.

### 3.5 TESTES EM BATELADA

Os ensaios em batelada foram realizados macerando-se o repolho picado em pedaços na forma de paralelepípedos sob um volume de solvente de 100 ml. As partículas apresentaram as seguintes dimensões: 0,32 x 0,71 x 1,03 cm.

Após o tempo de contato de 24 horas com agitação em *shaker* Dist modelo DI940, ou no agitador magnético MQAMA-301 fabricado pela Microquímica (ensaios cinéticos relatados no final do capítulo), o conteúdo do erlemayer foi filtrado para separar as partículas de repolho. O líquido foi centrifugado a 5000 rpm na centrífuga Sigma 4K15 por 15 min e então tomada uma alíquota o clarificado para correção do pH antes da medida da concentração da solução, utilizando-se um espectrofotômetro na faixa visível.

Por meio de planejamentos experimentais completos e aleatórios foram testadas as seguintes variáveis: pH de correção das amostras para leitura da concentração de corante, tipo de solvente, relação massa de repolho:volume de solvente e concentração do solvente.

Para avaliar o efeito do pH sobre o corante foram testados 12 valores de pH entre 2,4 e 4,2, sendo analisadas a intensidade da coloração por meio da absorbância e o comprimento de onda máximo resultante da solução em



espectrofotômetro visível. Desta maneira pôde-se observar possíveis efeitos batocrômico e hipercrômico na solução de corante analisada.

Os solventes testados para extração foram: soluções-tampão de McIlvaine (pH 3, 4 e 5), misturas álcool etílico-água (30, 40 e 70% em volume) e o ácido acético (5, 10 e 20% em volume).

A influência da massa de repolho foi estudada variando a relação massa de repolho:solvente entre 0,05 e 0,50 g/mL de ácido acético 20% em volume na extração.

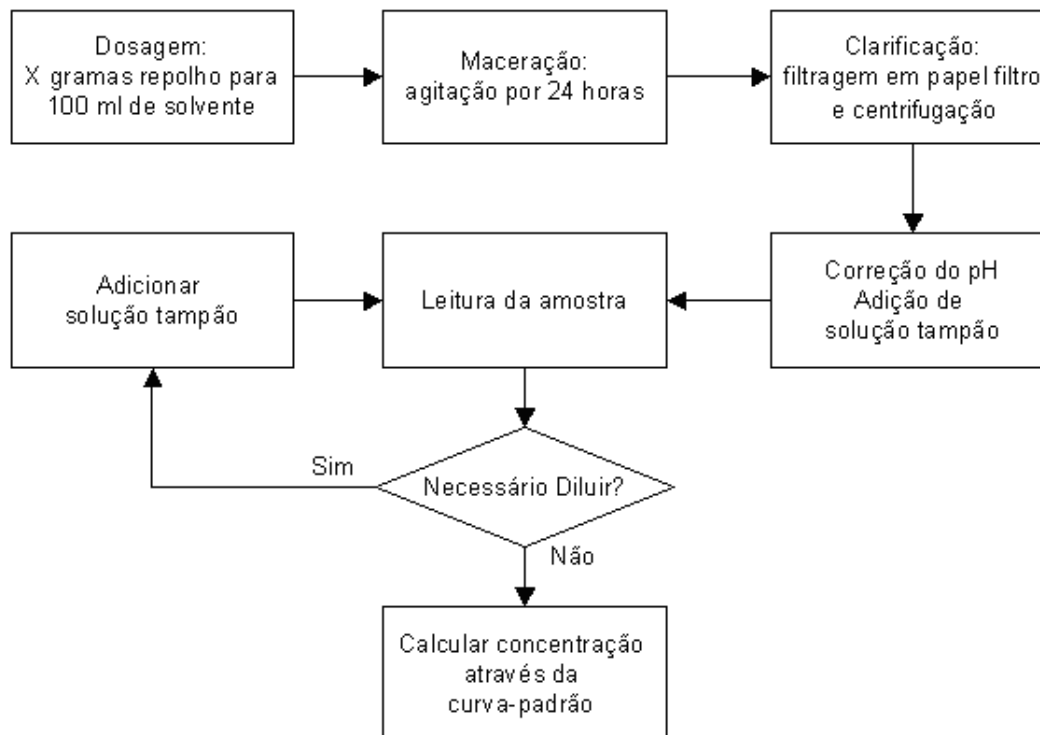
Uma vez definida a proporção correta de sólido e líquido nos ensaios em batelada, foi avaliada a concentração do ácido acético a ser usada. Foram testadas as seguintes concentrações de ácido acético: 10, 25, 40, 55, 70, 85 e 100% em volume.

Os ensaios foram realizados em triplicata e a concentração de corante expressa como concentração equivalente de vermelho congo (mg/L). A etapa de diluição foi realizada sempre que a absorbância da amostra foi superior a 0,9. A Tab. 3.4 resume a seqüência dos experimentos realizados:

**Tabela 3.4 – Etapas da investigação em batelada.**

Variável	Possibilidades testadas
pH	Verificada a influência da correção do pH da amostra na faixa de 2,4 a 4,2.
Tipo do solvente	Solução tampão, ácido cítrico, álcool etílico e ácido acético em diferentes concentrações.
Concentração de ácido acético	Variação de 10 a 100% em volume.
Massa de repolho roxo	Diferentes massas de 5 a 50g para cada 100 mL de solvente.
Cinética de extração	Evolução da cinética de extração ao longo de 24 horas de maceração.

A Fig. 3.5 apresenta sucintamente o fluxograma do processo de extração em batelada.



**Figura 3.5** – Fluxograma geral dos experimentos em batelada.

### 3.6 TESTES EM COLUNA

Nesta seção, inicialmente é apresentado o esquema adotado para a extração de corante em coluna e explicado o funcionamento dos dispositivos de monitoramento e controle do fluxo de solvente.

Operacionalmente, foram testadas duas configurações básicas para a extração em coluna: em passagem única (sem recirculação do solvente de extração) e com recirculação (reciclo de 100% do solvente na saída da coluna). No primeiro tipo de operação foi investigada a quantidade máxima de corante presente no repolho roxo e obtida a curva de extração ao longo do tempo. Na segunda configuração foi estudada principalmente a interação entre as diferentes variáveis que atuam durante o processo de extração em coluna.

### 3.6.1 Sistema de extração em coluna

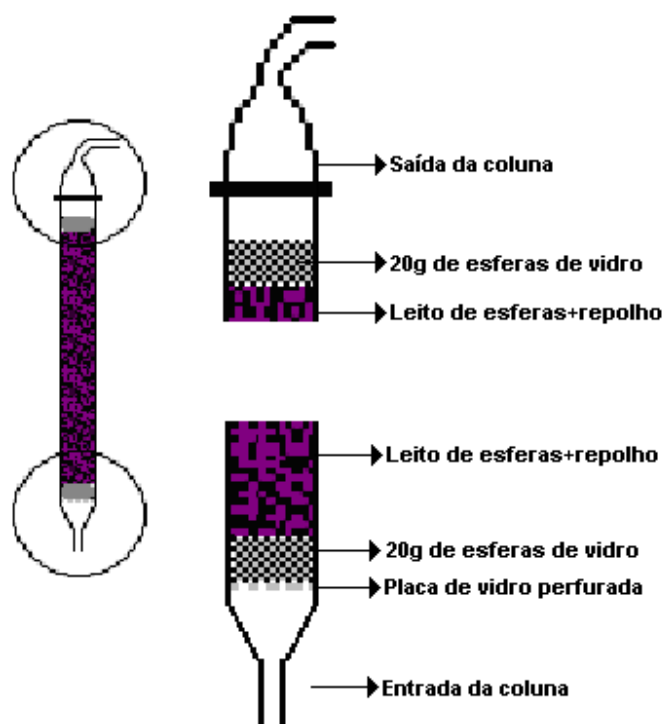
Os testes em coluna visaram obter informações sobre o processo de transferência de massa e cinética de extração das antocianinas do repolho roxo.

O sistema de extração testado foi constituído de uma coluna cilíndrica de vidro com uma capacidade interna de 212 cm<sup>3</sup> (3 cm de diâmetro interno e 30 cm de altura), recheada com uma mistura de repolho picado e pérolas de vidro de 4 mm de diâmetro na proporção 1:1 em massa. Esta proporção foi utilizada porque a porosidade do leito de pérolas de vidro é similar à porosidade do leito de repolho roxo e porque sendo leve o leito de partículas de repolho, houve a necessidade de adicionar um material que aumentasse a massa do leito, para que não ocorresse a descompactação do mesmo. A adição das pérolas de vidro reduziu em 30% a massa de repolho na coluna, porém dobrou a massa do leito e assegurou a uniformidade do mesmo ao longo da extração.

Quando a massa de repolho carregada na coluna era alterada, a seção afluyente da coluna era preenchida com um volume maior de pérolas de vidro, para que não houvesse mudança na porosidade do leito e nem alteração no comprimento da seção efluente.

Ao menos vinte gramas de pérolas de vidro eram colocadas na parte inferior antes do início do leito para distribuir o fluxo ascendente. A parte superior da coluna também exigiu a colocação de vinte gramas de pérolas de vidro, para que as partículas de repolho da parte superior do leito não fossem arrastadas e interferissem no fluxo de saída da coluna.

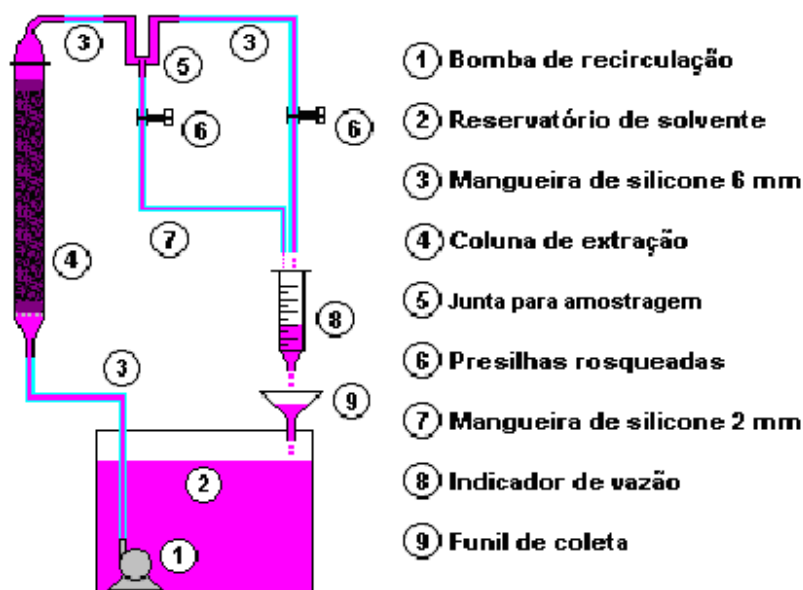
Na base da coluna existe uma placa circular de vidro perfurada com a função de distribuir o fluxo e sustentar o material do leito e todas as partes do sistema de circulação são conectadas através de mangueiras de silicone de 6 mm de diâmetro interno. A Fig. 3.6 mostra em detalhes a coluna de extração contínua.



**Figura 3.6** - Detalhes da coluna de extração

A circulação é feita com auxílio de uma moto bomba Better 650 (usada em aquários) colocada em reservatório fechado de 2 litros de capacidade. A bomba de aquário apresenta na saída de recalque uma abertura adicional para conectar uma mangueira plástica que succiona e faz borbulhar ar originalmente no aquário. Devido à vazão da bomba ser maior do que a necessária para recircular o solvente pela coluna, a mangueira plástica foi retirada e a energia em excesso foi então usada como meio de agitação para homogeneizar o solvente dentro do reservatório fechado.

A Fig. 3.7 é um esquema do sistema de extração contínua, com recirculação total do solvente.

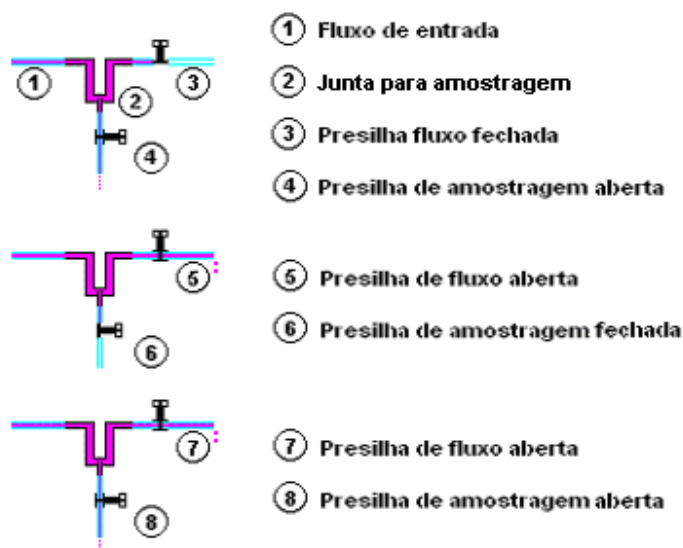


**Figura 3.7** - Visão geral do processo de extração contínua com recirculação de solvente.

Para a configuração em passagem única foi adicionado um segundo reservatório para coletar o líquido na saída da coluna, permeando-se a entrada da coluna com solvente livre de corante do repolho roxo.

Ao ligar-se o sistema de bombeamento é necessário expulsar completamente o ar interior, fazendo-se o solvente passar exclusivamente pela mangueira de amostragem.

A função da junta de amostragem é distribuir o fluxo de solvente na saída da coluna em duas correntes, podendo a fração menor ser usada para retirada de amostras, principalmente em vazões maiores de recirculação (a bomba de recirculação, mesmo com a coluna cheia alcançava uma vazão de até 40 L/h). Alterando-se a perda de carga na saída da coluna, faz-se com que o fluxo se distribua entre dois caminhos e a fração menor sirva para a coleta de amostras. A Fig. 3.8 demonstra as configurações possíveis do regulador de fluxo.

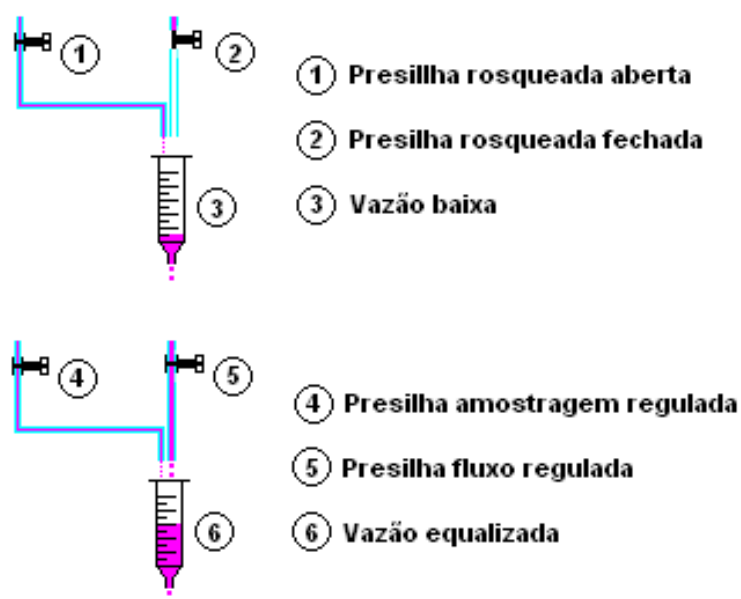


**Figura 3.8** - Junta para amostragem

Uma vez regulado o fluxo de amostragem, é então ajustada a vazão de recirculação, usando-se a presilha rosqueada localizada na mangueira que alimenta o indicador de vazão.

A vazão do solvente através da coluna é monitorada pela graduação da altura da coluna de líquido retido no interior do indicador de vazão, quando o sistema opera em regime permanente frente a diferentes valores de vazão. O indicador apresenta uma área de seção transversal constante à passagem de líquido, o que torna linear a relação altura de líquido acumulado no indicador em função da vazão. Como líquido de recirculação para calibração foi usada água destilada. O indicador de vazão encontra-se acoplado na saída da coluna, após a junta de amostragem.

A Fig. 3.9 mostra detalhes da regulação do indicador de vazão, com a expulsão inicial do ar na mangueira de amostragem e posterior equalização da vazão pela perda de carga através da restrição de fluxo associada ao grau de abertura das presilhas rosqueadas.



**Figura 3.9** - Regulagem do indicador de vazão.

Como reservatório do indicador de vazão foram utilizadas inicialmente garrafas PET, mas depois foi adotado o uso de seringas graduadas, por duas razões: a maior precisão ao utilizar a escala graduada no corpo da seringa e porque ao se definir um regime de operação mais lento (vazões menores), a variação do nível de líquido no interior da garrafa de PET era pouco sensível. Nos casos em que se utilizou a garrafa PET, diferentes tampas com diversas aberturas permitiram a fixação de diferentes vazões de recirculação.

A Tab. 3.5 apresenta os resultados obtidos para cada um dos sistemas de indicação da vazão de recirculação na coluna de extração contínua.

**Tabela 3.5** – Vazão associada aos indicadores de fluxo em regime permanente.

Indicador de vazão	Recurso	Vazão medida
		(média $\pm$ desvio padrão, repetições = 10, L/h)
Garrafa PET 600 mL (com marcação fixa de volume)	Tampa 1	1,0812 $\pm$ 0,1326
	Tampa 2	4,0936 $\pm$ 0,5862
	Tampa 3	7,8856 $\pm$ 0,6508
	Tampa 4	15,6113 $\pm$ 0,9262
Seringa de 10 mL	Volume = 1 mL	4,5245 $\pm$ 0,3845
Seringa de 10 mL	Volume = 5 mL	5,9436 $\pm$ 0,4568
Seringa 5 mL	Volume = 1 mL	0,2863 $\pm$ 0,0523

Nestes ensaios considerou-se que a dispersão nos dados de vazão apresentada pelos dispositivos era compatível com a faixa de operação desejada para a coluna de extração contínua.

### **3.6.2 Extração em coluna sem recirculação do solvente**

O sistema de extração em coluna sem recirculação de solvente é constituído por um reservatório de 20 litros, o qual contém uma bomba submersa para impulsionar o solvente, através da coluna cilíndrica de vidro. O solvente entra pela base da coluna em posição vertical e sai pelo topo.

A distribuição do fluxo na entrada da coluna é garantida por uma placa de vidro perfurada e por um leito de 2 cm de pérolas de vidro de 4 mm de diâmetro. O leito poroso de 25 cm de altura é formado por partículas de repolho picado com as mesmas dimensões informadas para os testes em batelada (item 4.1.2) e pérolas de vidro, na relação mássica de 1 g de repolho para cada 1 g de pérolas de vidro.

A coluna suporta uma quantidade máxima de 70 g de repolho roxo. No topo da coluna, após o leito, é adicionada mais uma camada de 2 cm de altura de pérolas de vidro para evitar o arraste das partículas do recheio.

Após sair da coluna o solvente passa por um regulador de fluxo. A amostragem do líquido que sai da coluna para determinar a concentração do corante é feita antes da passagem pelo indicador de vazão. A descarga do efluente da coluna é feita em um outro reservatório de 20 litros.

Ensaio de esgotamento do repolho roxo foram feitos a diferentes vazões de bombeamento (0,3, 1,0 e 4,0 L/h). As amostras foram coletadas na saída da coluna ao longo de 48 horas, tempo necessário para o esgotamento do corante. Com este ensaio, foi identificada a máxima quantidade de corante que pode ser extraída do repolho roxo pelo solvente selecionado neste trabalho.



Durante a extração foram coletados diferentes volumes de efluente da coluna para obter-se soluções de diferentes concentrações de antocianinas para os testes de reabsorção.

O experimento serviu para averiguar a evolução da extração até atingir o esgotamento virtual do corante no sólido, bem como as verificar as propriedades fenomenológicas e de transferência de massa do sistema.

### **3.6.3 Reabsorção de antocianinas sobre o repolho esgotado de corante**

Após o esgotamento do repolho roxo pelo processo de extração contínua, o sistema de extração foi mantido na configuração de passagem única, só que agora foi verificado se o contato com o corante presente na fase líquida permitia a reabsorção das antocianinas pelo repolho esgotado.

Para cada solução de concentração conhecida de antocianina bombeada em passagem única, o sistema operou até que fosse atingido o equilíbrio para transferência de massa.

O teste serviu para quantificar a reabsorção de antocianinas da solução aquosa sobre o leito de esferas mais repolho roxo esgotado após dois dias de extração sem recirculação de solvente na vazão de 0,3 L/h.

### **3.6.4 Extração em coluna com recirculação do solvente**

Com recirculação: no sistema de extração em coluna com recirculação do solvente, o reservatório de 20 litros foi substituído por outro de 2 litros. Após passar pelo indicador de vazão, todo o líquido retorna ao reservatório de recirculação. A coleta das amostras na saída da coluna é feita após a passagem pelo regulador de fluxo. Sendo o volume da amostra necessário para análise

pequeno (cerca de 1 ml), considera-se que não há variação de volume no reservatório de recirculação do solvente.

### 3.7 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

O planejamento experimental é uma ferramenta útil para a análise, modelagem e otimização das condições operacionais de um sistema em estudo. A análise do planejamento experimental verifica a maneira como as variáveis do processo interagem entre si, quantifica aquelas que são significativas e reduz o esforço experimental (volume de ensaios) necessário para que se possa extrair o máximo rendimento do sistema.

As técnicas de planejamento experimental têm encontrado larga aplicação não só para pesquisa, mas também para a indústria onde a competitividade das operações é medida pelas variáveis: qualidade, velocidade, confiabilidade, flexibilidade e, o mais importante, custo, segundo Slack (1993).

Para fazer um bom planejamento experimental é preciso ter bem claro o objetivo da pesquisa. Com este conhecimento em mãos podemos escolher a técnica correta. À medida que aumentamos o grau de informação sobre o nosso sistema, avançamos na direção de uma melhor correlação e ajuste para o modelo proposto. Uma seqüência natural de investigação é mostrada na Tab 3.6.

**Tabela 3.6** - Etapas possíveis em um planejamento experimental

Nível de conhecimento	Objetivo	Técnica
Pouco ou nenhum	Triagem das variáveis	Planejamento fracionário
Efeitos principais misturados com efeitos de ordem menor	Avaliação da influência das variáveis	Planejamento fatorial completo
Efeito de cada variável sobre o processo	Construção de um modelo empírico	Modelagem por mínimos quadrados
Equação relacionando as variáveis de entrada e de saída do processo	Otimizar a operação	Metodologia de superfície de resposta, método de busca simplex

**Fonte:** adaptado de BARROS NETO, 1996

### 3.7.1 Planejamento fracionário

Devido ao grande número de variáveis importantes para o processo de extração em coluna com recirculação total do solvente, foi realizado um estudo dos efeitos de modo a avaliar a influência de cinco fatores:

- (A) Massa de repolho roxo;
- (B) pH de extração;
- (C) Volume de solvente recirculado;
- (D) Concentração de NaCl;
- (E) Vazão de recirculação.

Para este número de fatores, um planejamento completo consumiria 32 experimentos. Optou-se por fazer um planejamento saturado em duplicata, assim obtemos o número mínimo de ensaios para 5 variáveis que permite quantificar os efeitos principais de maneira isolada, ficando as interações de menor ordem misturadas entre si. Esta alternativa consome então 16 experimentos. A Tab. 3.7 identifica os níveis de trabalho durante a triagem das variáveis.

**Tabela 3.7** - Níveis testados na triagem de variáveis.

Fator	Nível de variação do fator	
	Nível +1	Nível -1
Massa de repolho roxo	30 g	50 g
pH de extração	3,0	5,0
Volume de solvente recirculado	1,0 L	1,5 L
Força iônica do solvente	1% P/V	2,5% P/V
Vazão de recirculação	4,5 L/h	6,0 L/h

Uma vez realizada a triagem de variáveis, foi determinado o valor do efeito de cada fator sobre a concentração de antocianina presente no final das seis horas de extração contínua.

De posse dos efeitos de cada fator, foi analisada a significância estatística dos mesmos. Com este procedimento é possível determinar, a partir das 5 fatores testados, quais eram realmente importantes para o processo de extração contínua de antocianinas do repolho roxo.

### 3.7.2 Metodologia de superfícies de resposta (MSR)

Conhecendo os fatores mais importantes para a extração do corante em coluna com recirculação total do solvente, foi possível ampliar o estudo do processo, adicionando três novos níveis:  $\pm \alpha$  e 0, realizando uma otimização sobre a superfície de resposta do sistema, representada por um modelo quadrático empírico.

O valor dos níveis  $\pm \alpha$  são determinados pela relação  $\alpha = \sqrt[n]{2^n}$ , onde n é o número de fatores analisados. A Tab. 3.8 apresenta os níveis de trabalho experimental usados na construção da superfície de resposta.

**Tabela 3.8** - Níveis testados na metodologia de superfícies de resposta.

Fator	Nível de variação do fator				
	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
Massa de repolho roxo	23,2 g	30 g	40 g	50 g	56,8 g
pH de extração	2,3	3,0	4,0	5,0	5,7
Volume de solvente recirculado	0,83L	1,00 L	1,25 L	1,50 L	1,67 L

### 3.8 Ensaios cinéticos

Na última etapa da pesquisa foram realizados ensaios cinéticos para verificar a evolução da extração de corante ao longo do tempo. Todos estes ensaios foram modelados matematicamente e simulados numericamente para estimar os parâmetros de transferência de massa. As equações e condições de contorno para o modelo são apresentadas no capítulo 5, específico para a descrição matemática e apresentação e discussão dos resultados da simulação.

Nos ensaios cinéticos foram verificados tanto o tipo de processo extrativo (batelada com agitação no *shaker*, batelada com agitação magnética e extração em coluna com recirculação total do solvente em três vazões diferentes: 0,3, 6,0 e 10,0 L/h), como a relação massa de repolho:volume de solvente (MR/MS = 0,15, 0,20, 0,25 e 0,30 g/mL). Os ensaios em batelada foram conduzidos em triplicata e

os ensaios em coluna em duplicata. A Tab. 3.9 indica os diferentes experimentos cinéticos.

**Tabela 3.9** - Experimentos cinéticos realizados

Processo		Batelada – <i>Shaker</i> *			
Experimento	1	2	3	4	
MR/MS (g/ml)	0,15	0,20	0,25	0,30	
MR (g)	30	40	50	60	
Processo		Batelada – agitador magnético *			
Experimento	5	6	7	8	
MR/MS (g/ml)	0,15	0,20	0,25	0,30	
MR (g)	30	40	50	60	
Processo		Coluna – 0,3 L h <sup>-1</sup> **			
Experimento	9	10	11	12	
MR/MS (g/ml)	0,15	0,20	0,25	0,30	
MR (g)	135	140	300	300	
Processo		Coluna – 6,0 L h <sup>-1</sup> **			
Experimento	13	14	15	16	
MR/MS (g/ml)	0,15	0,20	0,25	0,30	
MR (g)	135	140	300	300	
Processo		Coluna – 10,0 L h <sup>-1</sup> **			
Experimento	17	18	19	20	
MR/MS (g/ml)	0,15	0,20	0,25	0,30	
MR (g)	135	140	300	300	

\* ensaios em triplicata

\*\*ensaios em duplicata

Nos ensaios de extração em coluna cuja relação MR/MS foi igual a 0,15 e 0,20 foram usadas duas colunas com capacidade máxima de 70 gramas de repolho no leito acopladas em série. Nos experimentos cinéticos cuja relação MR/MS foi maior do que 0,20 foi confeccionada uma coluna de vidro de maior capacidade, com 4,8 cm de diâmetro interno e 48,2 cm de altura de leito de esferas mais repolho roxo, permitindo acomodar 300 g de repolho no leito dentro da coluna.

Em todos os ensaios o tempo de extração foi de 24 horas e as amostragens realizadas a 10, 20, 30, 60, 90, 120, 180, 360, 540, 720 e 1440 minutos.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados os resultados de toda a pesquisa experimental, bem como serão aplicados os princípios de engenharia e as técnicas estatísticas para fundamentação da análise e discussão dos diversos experimentos efetuados.

### 4.4 ENSAIOS DE CARACTERIZAÇÃO

#### 4.4.4 Caracterização físico-química

A caracterização físico-química da cebola roxa e do repolho roxo envolveu as análises de pH, °Brix (% sólidos em solução), índice de refração, % umidade e análise do teor de açúcares redutores pelo método DNS. Para as análises da cebola roxa, foram definidas três regiões de estudo: extremos, periferia e miolo, conforme ilustrado na Fig. 3.1.

A Tab. 4.1 resume as características físico-químicas da cebola roxa para cada uma das regiões (extremos, miolos e periferia).

Os valores observados nos experimentos encontram-se de acordo com a caracterização realizada por Santos (1998).

A conclusão deste estudo foi que a cebola roxa não apresentou uma variação significativa para as propriedades físico-químicas entre as regiões utilizadas na caracterização.

O suco de repolho roxo "*in natura*" apresenta segundo Coutinho (2002), as características apresentadas na Tab. 4.2.

**Tabela 4.1-** Valores encontrados na caracterização físico-química da cebola roxa.

Ensaio	Região	Experimento (média ± desvio padrão, repetições = 3)
pH	Extremo	5,4933 ± 0,0808
	Miolo	5,5200 ± 0,0693
	Periferia	5,3800 ± 0,1217
° Brix	Extremo	11,2000 ± 0,2000
	Miolo	12,1667 ± 0,0577
	Periferia	11,2667 ± 0,2309
Umidade	Extremo	89,8100 ± 0,3466
	Miolo	90,5663 ± 0,5211
	Periferia	91,1333 ± 0,2623
Açúcares redutores	Extremo	3,3233 ± 0,3553
	Miolo	3,6633 ± 0,1858
	Periferia	3,3200 ± 0,1868

Este experimento visou caracterizar as físico-químicas da cebola roxa em diferentes regiões, comparando-as entre si.

**Tabela 4.2 –** Caracterização do extrato de repolho roxo.

Propriedade	Característica	Valor encontrado
PH		5,2
°Brix	Não centrifugado	6,6
°Brix	Centrifugado	5,6
Índice de refração	Não centrifugado	1,3420
Índice de refração	Centrifugado	1,3405
Teor de açúcares redutores	g/L	34,83
Cinzas	% em peso	5,76
Pectinas		Ausentes

**Fonte:** Coutinho, 2002

O conhecimento das características do extrato de repolho roxo tem por finalidade obter indícios sobre a degradação que o mesmo possa sofrer após a extração, segundo Coutinho (2002).

#### 4.4.4 Caracterização do leite de partículas do repolho roxo

Nos ensaios de extração é necessário conhecer o tamanho das partículas de repolho picado e a porosidade do leito fixo (na extração em coluna). Esta informação é utilizada na modelagem matemática para auxiliar na descrição do processo extrativo.

### a) Porosidade do leito

No estudo de porosidade foram preparadas várias proporções em massa de repolho e pérolas de vidro.

Estas proporções são importantes uma vez que um leito constituído apenas de partículas de repolho apresentou dificuldade para manter a uniformidade do leito. Em função da vazão de circulação do solvente através do leito as partículas leves eram facilmente arrastadas, modificando a porosidade ao longo do recheio na coluna pelo acúmulo de material no topo e pela deficiência e/ou ausência de leito após a região de distribuição do fluxo na coluna.

Para melhorar as características de suporte, uniformidade e estabilidade do leito foram introduzidas as pérolas de vidro, as quais permitem trabalhar com a maior massa possível de repolho no interior da coluna.

A Tab. 4.3 mostra que as porosidades de leitos de pérolas de vidro e de leitos de partículas de repolho roxo são próximas e que não há uma modificação significativa da porosidade do leito constituído apenas pelo repolho roxo em relação àqueles constituídos por misturas de pérolas de vidro e repolho roxo.

**Tabela 4.3 – Valores de porosidade para diferentes composições do leito.**

Composição do leito de partículas (em massa)	Valor encontrado para a porosidade do leito (média $\pm$ desvio padrão, repetições = 4)
100 % repolho	0,3190 $\pm$ 0,0084
50 % repolho e 50 % pérolas	0,3158 $\pm$ 0,0730
66% repolho e 34% pérolas	0,3161 $\pm$ 0,0129
100 % pérolas	0,3640 $\pm$ 0,0940

### b) Tamanho das partículas do repolho

A caracterização dimensional das partículas de repolho roxo foi feita após a separação das partes lisas e rugosas das folhas.



As medidas foram tomadas ao longo dos três eixos cartesianos, anotando-se duas leituras para cada direção em 25 amostras diferentes do material picado para cada região (lisa ou rugosa). A Tab. 4.4 identifica os dados coletados neste procedimento, ao longo das 25 amostras de material liso e rugoso do repolho roxo, analisado dimensionalmente.

Observa-se que a maior diferença entre o conjunto de dados esteve na altura média do material ( $\Delta z$ ). As partículas rugosas não apresentam uma superfície uniforme para medida nesta dimensão. Como o material é irregular esta face apresenta a sobreposição de camadas (a região próxima da periferia é mais rugosa e a região central é mais lisa). A consequência deste fato é que a dispersão apresentada nesta dimensão é comparável ao valor medido.

**Tabela 4.4 – Caracterização dimensional das partículas de repolho**

Ensaio	Valor encontrado (média $\pm$ desvio padrão, amostras = 25, duas leituras por dimensão, em mm)	
	Parte Lisa	Parte Rugosa
Dimensão $\Delta x^*$	$7,2 \pm 2,4$	$7,1 \pm 2,1$
Dimensão $\Delta y^*$	$9,9 \pm 2,2$	$10,8 \pm 2,8$
Dimensão $\Delta z^*$	$1,9 \pm 1,5$	$4,5 \pm 2,2$

\* $\Delta x$  = largura,  $\Delta y$  = comprimento e  $\Delta z$  = altura.

## 4.4 TESTES EM BATELADA

Os resultados dos ensaios experimentais foram analisados e comparados entre si através do teste de Duncan, ao nível de significância de 5%, para identificação da existência de diferenças significativas entre as médias obtidas para cada um dos fatores estudados.

### 4.4.4 pH

Para estudar como o pH influencia a leitura das amostras de extrato foi realizada uma série de experimentos em batelada.

Foram verificados nos experimentos tanto efeitos de deslocamento do máximo de absorbância, bem a variação no valor de absorbância da amostra.

O objetivo deste estudo foi determinar o valor de pH ótimo para determinação da concentração de corante nas amostras após a extração, a fim de garantir um sinal de absorbância com boa amplitude para análise, assim como um valor de pH que não provocasse degradação excessiva das antocianinas presentes no extrato de repolho roxo, tendo em vista o abaixamento do pH do meio.

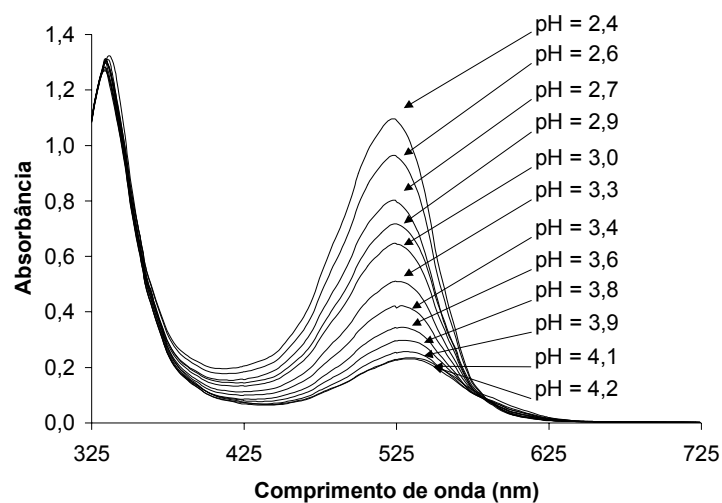
Foi observado que a elevação do pH é acompanhada pelo deslocamento de  $\lambda_{\text{máx}}$  na região visível, conforme mostra a Tab. 4.5. Ocorre também uma redução na intensidade do pico, observada como uma diminuição da absorbância. Conforme observado por Herédia *et al.* (1998), a alteração do pH é acompanhada de uma mudança de coloração na região visível.

**Tabela 4.5** – Variação do comprimento de onda máximo e da absorbância com o pH.

pH	Posição máximo (nm)	Absorbância (525 nm)
		(média $\pm$ desvio padrão, repetições = 3)
2,4	524	1,090 $\pm$ 0,019
2,6	524	0,961 $\pm$ 0,008
2,7	524	0,797 $\pm$ 0,052
2,9	524	0,717 $\pm$ 0,017
3,0	524	0,644 $\pm$ 0,022
3,3	524	0,510 $\pm$ 0,024
3,4	528	0,415 $\pm$ 0,035
3,6	528	0,343 $\pm$ 0,008
3,8	529	0,295 $\pm$ 0,021
3,9	531	0,253 $\pm$ 0,016
4,1	532	0,226 $\pm$ 0,010
4,2	534	0,228 $\pm$ 0,009

Na Fig. 4.1, fica visível a redução da absorbância com o aumento do pH, verificado através do espectro de varredura dos ensaios realizados.

No que diz respeito ao comprimento de onda máximo, o teste de Duncan forneceu diferenças significativas entre a leitura da amostra a 524 nm e todos os demais comprimentos de onda. Esta faixa corresponde ao pH de leitura da amostra compreendido entre 2,4 e 3,3, onde não ocorre deslocamento no  $\lambda_{\text{máx}}$  e a absorbância tem a maior amplitude.



**Figura 4.1** – Varredura de espectro nos ensaios de pH para o repolho roxo.

**Tabela 4.6** – Probabilidade para o teste de Duncan aplicado ao  $\lambda_{\text{máx}}$ .

	524 nm	528 nm	529 nm	531 nm	532 nm	534 nm
	0,787	0,379	0,295	0,253	0,226	0,228
524 nm		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
528 nm	0,00		<b>0,45</b>	<b>0,29</b>	<b>0,22</b>	<b>0,22</b>
529 nm	0,00	<b>0,45</b>		<b>0,70</b>	<b>0,57</b>	<b>0,57</b>
531 nm	0,00	<b>0,29</b>	<b>0,70</b>		<b>0,82</b>	<b>0,82</b>
532 nm	0,00	<b>0,22</b>	<b>0,57</b>	<b>0,82</b>		<b>0,98</b>
534 nm	0,00	<b>0,22</b>	<b>0,57</b>	<b>0,82</b>	<b>0,98</b>	

A Tab. 4.6 faz a comparação múltipla das variáveis  $\lambda_{\text{máx}}$  e absorbância, para o teste de Duncan. Os valores marcados em negrito representam as comparações entre as médias que não apresentaram diferenças significativas de valores.

O teste de Duncan para as diferenças entre as médias de absorbância como função do pH mostrou que todas as diferenças são significativas com o aumento da absorbância à medida que o pH diminui, com exceção das amostras lidas em valores de pH maiores do que 3,9.

A Tab. 4.7 apresenta a comparação múltipla entre as variáveis pH e absorbância, expressa pelo nível p.

**Tabela 4.7 – Teste de Duncan aplicado às variáveis pH e Absorbância.**

pH	2,4	2,6	2,7	2,9	3,0	3,3	3,4	3,6	3,8	3,9	4,1	4,2
Absorbância	1,094	0,961	0,797	0,717	0,644	0,510	0,415	0,343	0,295	0,253	0,226	0,228
PH 2,4		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PH 2,6	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PH 2,7	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PH 2,9	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PH 3,0	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PH 3,3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PH 3,4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
PH 3,6	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,02	0,00	0,00	0,00
PH 3,8	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02		0,04	0,00	0,00
PH 3,9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04		<b>0,20</b>	<b>0,21</b>
PH 4,1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	<b>0,20</b>		<b>0,90</b>
PH 4,2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	<b>0,21</b>	<b>0,90</b>	

O resultado destes dois fatores, absorbância e  $\lambda_{\text{máx}}$ , devem ser associados, a fim de que se possa obter uma faixa de leitura estável, de modo que as variações de pH não causem efeito batocrômico e que a hipercromia possa fornecer resultados dentro da faixa de validade da lei de Beer. Para tanto, o pH 3,0 é um valor conveniente, sendo recomendado na literatura por Sondheimer e Kertesz (1948) e Lopes (2002). Garante-se assim, uniformidade e possibilidade de comparação entre os experimentos realizados.

#### 4.4.4 Ensaios de extração com cebola roxa

A fonte inicial de antocianinas para os ensaios de extração era a cebola roxa. Este vegetal foi substituído pelo repolho roxo porque nenhum dos solventes testados foi capaz de obter uma concentração significativa de antocianinas no extrato. Uma alternativa possível seria a inserção de uma etapa de concentração, o que aumentaria o custo do processo. Visualmente é possível observar que a antocianina da cebola roxa está concentrada junto à parede externa de cada uma das diferentes camadas que formam o corpo interno da cebola roxa, o que pode dificultar a extração do corante.

#### 4.2.3.1. Solventes de extração para a cebola roxa

Para verificar a influência de diferentes solventes na extração das antocianinas da cebola roxa, foram testados 3 valores de solução tampão de McIlvaine (pH 3, pH 4 e pH 5), dois tipos de ácido (ácido cítrico 5% em peso e ácido acético 5% em volume) e duas concentrações diferentes de álcool etílico (25 e 50% em volume).

Os resultados das leituras de absorbância em 525 nm indicaram que o ácido acético e o álcool etílico foram as substâncias que melhor extraíram as antocianinas da cebola roxa, conforme demonstrado na Tab. 4.8.

**Tabela 4.8** – Solventes testados na extração das antocianinas da cebola roxa.

Solvente	Concentração (mg/L) vermelho congo
Tampão pH 5,0	0,198
Tampão pH 4,0	0,264
Tampão pH 3,0	0,363
Ácido acético 5% em volume	0,759
Ácido cítrico 5% em peso	0,297
Álcool etílico 25% em volume	0,924
Álcool etílico 50% em volume	1,056

Durante estes ensaios foi verificada a existência de uma grande instabilidade no extrato de antocianinas obtido da cebola roxa. Para mensurar este efeito foi conduzido um experimento descrito no item 4.2.2.2.

As baixas concentrações encontradas no extrato indicam a dificuldade de extração das antocianinas da cebola roxa.

#### 4.2.3.1. Estabilidade da cebola

Um exemplo da instabilidade do extrato de cebola roxa após 24 horas de extração em batelada com álcool etílico 70% em volume está descrito no seguinte procedimento:

- 1 – coleta do líquido do final do processo de extração;
- 2 – centrifugação e correção do pH para 3,0 na fração de líquido a ser analisada;
- 3 – varredura de espectro entre 475 e 575 nm;
- 4 – cálculo da concentração de antocianinas pela absorbância em 525 nm.

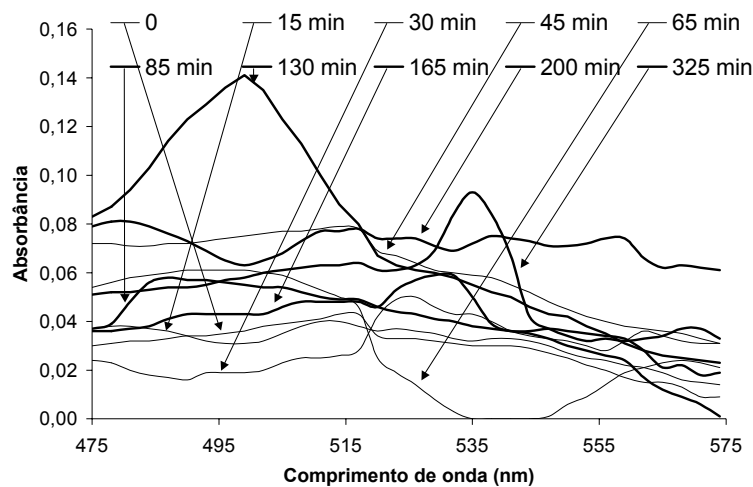
Os passos de 2 a 4 foram repetidos em diferentes intervalos de tempo.

A Tab. 4.9 sumariza o tempo decorrido entre a obtenção do extrato clarificado e a análise desta amostra, a posição do máximo de absorbância e a concentração de antocianinas em mg/L, expressa como corante vermelho congo.

**Tabela 4.9** – Estudo da estabilidade do extrato de cebola roxa.

Tempo após extração (min)	Posição máximo (nm)	Concentração (mg/L) vermelho congo ( 525 nm)
0	514-517	4,4
15	511-514	4,8
30	526	6,6
45	514	8,4
65	490-499	1,8
85	487	5,7
130	499	8,1
165	529-532	7,5
200	478-481	9,8
325	535	8,3

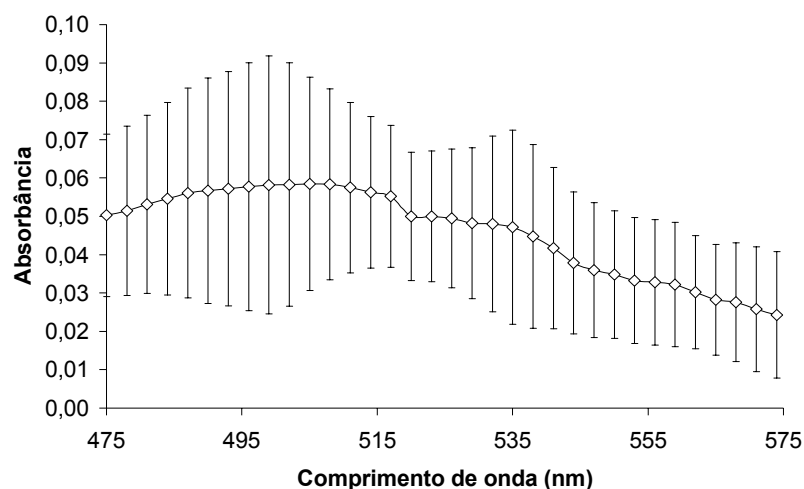
A Fig. 4.2 mostra a inconstância da amostra coletada para diferentes tempos, na forma de espectro de varredura, onde é observada a ausência de uma curva característica para o extrato de cebola roxa que permita quantificar a efetiva concentração de antocianinas extraídas através da leitura da absorbância em 525 nm.



**Figura 4.2** – Espectro de varredura visível para a amostra de extrato de cebola roxa.

A dificuldade de confiança dos dados pode ser devido à baixa concentração, o que pode ser solucionado com a concentração da amostra. Esta alternativa aumentaria os custos do processo como um todo. Comparativamente, a concentração de antocianinas extraídas do repolho roxo usando o mesmo processo (extração em batelada por 24 horas com álcool 70% em volume) é 30 vezes maior.

A Fig. 4.3 mostra este mesmo resultado como uma medida da dispersão observada na varredura de espectro (média  $\pm$  desvio padrão da absorbância) para as leituras feitas nos 10 diferentes intervalos de tempo mostrados na Tab. 4.9, para o extrato da cebola roxa.



**Figura 4.3** – Dispersão observada nas leituras do extrato de cebola roxa no espectro visível.

A cada espectro de varredura realizado era como se a amostra fosse de um material totalmente diferente, pois mudavam tanto a forma da curva como a localização dos pontos de máximo de absorbância observados, implicando nas variações observadas quando se procurou determinar a concentração de antocianinas da amostra de extrato ( $6,5 \pm 2,38$  mg/L).

Este comportamento foi uma constante nos ensaios realizados com a cebola roxa e inviabilizou o uso deste vegetal no trabalho experimental proposto.

A quantidade máxima de antocianinas encontrada em cebola roxa por Ferreres *et al.* foi de 233 mg/Kg. Nos ensaios em batelada foram usadas 25 gramas de cebola roxa e 100 ml de solvente. A concentração de 6,5 mg/L encontrada neste trabalho é equivalente a 260 mg/Kg, bastante próximo do relatado na literatura. Uma forma de trabalhar reduzir a variação encontrada no método de análise é concentrar a amostra em rotavapor, introduzindo uma operação de concentração acoplada ao processo extrativo.

A Figuras 4.2 e 4.3 mostram claramente a grande diversidade de valores que podem ser associados à amostra de extrato de cebola roxa, impossibilitando a



quantificação precisa do teor de antocianinas presentes ao final do processo de extração.

Em um estudo realizado por NASATTO et al. (2003), ficou demonstrado que a incidência direta da luz e temperatura são os maiores responsáveis pela degradação de antocianinas presentes no extrato de cebola roxa.

A redução do teor de açúcares através de processos adsorptivos contribui significativamente para o aumento da estabilidade frente aos processos que causam a degradação das antocianinas (LOPES, 2002). O extrato de repolho roxo possui 34,83 g/L de açúcares redutores (COUTINHO, 2002) e a presença de açúcares pode contribuir para acelerar a degradação do extrato.

A instabilidade é decorrente de fatores externos (como a luz e a temperatura) que atuam alterando a estrutura química das antocianinas resultando na redução da coloração predominante no meio.

#### **4.4.4 Ensaios com o repolho roxo**

No item 4.3.1 foi investigada a extração contínua de corante do repolho roxo e através deste procedimento foi determinado que a quantidade máxima de antocianina extraída foi de 1,7 miligramas de corante expresso como vermelho congo por grama de repolho roxo.

##### **4.2.3.1. Solventes de extração para o repolho roxo**

Em função da instabilidade apresentada pelo extrato de cebola roxa, foram efetuados ensaios de extração com o repolho roxo, uma fonte rica de antocianinas.

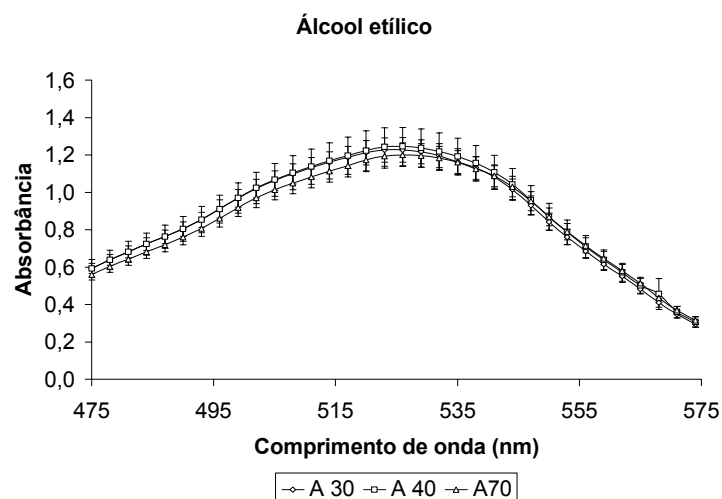
Os solventes testados foram soluções tampão McIlvaine (pH 3, pH 4 e pH 5), o álcool etílico (30, 40 e 70% em volume) e o ácido acético (5, 10 e 20% em

volume). A capacidade de extração dos diferentes solventes estudados é mostrada na Tab. 4.10 enquanto as Figuras 4.4 a 4.6 mostram o espectro de varredura e a dispersão dos valores de absorbância apresentada tendo em vista as repetições realizadas. Na Tab. 4.10 é possível verificar que a concentração das soluções de antocianinas extraídas do repolho roxo é bem maior do que aquela representada pela cebola roxa (30 vezes maior para a extração com o álcool etílico 70 % em volume).

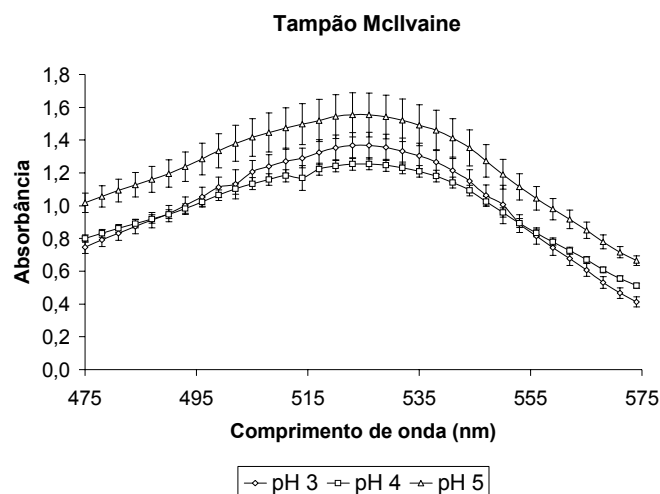
**Tabela 4.10** – Solventes testados na extração das antocianinas do repolho roxo.

Solvente	Concentração (mg/L) Vermelho congo *
TP3 = Tampão pH 3,0	225,5 ± 13,29
TP4 = Tampão pH 4,0	207,1 ± 6,07
TP5 = Tampão pH 5,0	256,3 ± 22,1
AE30 = Álcool etílico 30% em volume	202,5 ± 10,82
AE40 = Álcool etílico 40% em volume	205,5 ± 16,94
AE70 = Álcool etílico 70% em volume	198,1 ± 10,43
AA5 = Ácido acético 5% em volume	258,1 ± 2,01
AA10 = Ácido acético 10% em volume	276,8 ± 16,41
AA20 = Ácido acético 20% em volume	302,4 ± 8,94

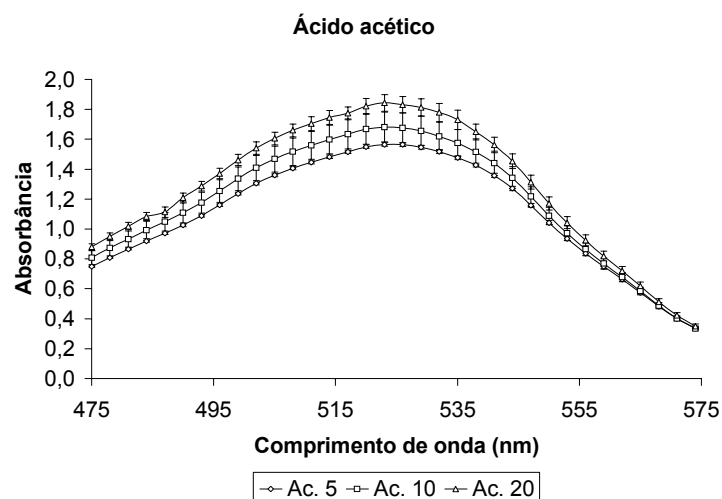
\*(média ± desvio padrão, repetições = 3,  $\lambda=525$  nm,  $pH_{\text{leitura}} = 3,0$ )



**Figura 4.4** – Espectro de varredura da extração das antocianinas do repolho roxo com o álcool etílico.



**Figura 4.5** – Espectro de varredura da extração das antocianinas do repolho roxo com solução tampão Mcllvaine.



**Figura 4.6** – Espectro de varredura da extração de antocianinas do repolho roxo com o ácido acético.

As Figuras 4.4 a 4.6 mostram que existe uma satisfatória repetibilidade na forma do espectro de varredura, não se apresentando o efeito de deslocamento dos máximos de absorvância (efeito batocrômico). A dispersão encontrada nas amostras é considerada aceitável, tendo um coeficiente de variação (desvio padrão / média) inferior a 10% na maioria dos casos.

O teste de Duncan é resumido na Tab. 4.11, que traz a comparação de probabilidades para o tipo de solvente e concentração de corante extraído durante a maceração.

**Tabela 4.11 – Teste de Duncan aplicado ao tipo de solvente.**

Solvente	TP3	TP4	TP5	AE30	AE40	AE70	AA5	AA10	AA20
Conc. Corante	225,5	207,1	256,3	202,5	205,5	198,1	258,1	276,8	302,4
TP3		<b>0,10</b>	0,01	<b>0,06</b>	<b>0,09</b>	0,03	0,01	0,00	0,00
TP4	<b>0,10</b>		0,00	<b>0,69</b>	<b>0,88</b>	<b>0,46</b>	0,00	0,00	0,00
TP5	0,01	0,00		0,00	0,00	0,00	<b>0,87</b>	<b>0,09</b>	0,00
AE30	<b>0,06</b>	<b>0,69</b>	0,00		<b>0,78</b>	<b>0,69</b>	0,00	0,00	0,00
AE40	<b>0,09</b>	<b>0,88</b>	0,00	<b>0,78</b>		<b>0,53</b>	0,00	0,00	0,00
AE70	0,03	<b>0,46</b>	0,00	<b>0,69</b>	<b>0,53</b>		0,00	0,00	0,00
AA5	0,01	0,00	<b>0,87</b>	0,00	0,00	0,00		<b>0,10</b>	0,00
AA10	0,00	0,00	<b>0,09</b>	0,00	0,00	0,00	<b>0,10</b>		0,00
AA20	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	

Pode-se observar que a utilização de ácido acético a 5 e 10% em volume aumenta em média, 34% a concentração de corante extraído em comparação com a utilização de álcool etílico 70% em volume. Usando o ácido acético 20%, o aumento na concentração de corante é de 52%. Sendo o ácido acético o solvente mais efetivo, foi o escolhido para ser usado neste estudo.

#### 4.2.3.2. Relação massa repolho:volume de solvente (MR/VS)

Uma seqüência de testes em batelada foi elaborada para verificar a influência da relação MR/VS na extração das antocianinas do repolho roxo. Os resultados são explicitados na Tab. 4.12. Ao manter o volume de solvente constante (100 ml de ácido acético 20%), a concentração de antocianinas no extrato aumenta com o aumento da massa, mas a fração de corante extraída diminui com o aumento da massa. A única matéria-prima que adiciona custo ao sistema é o repolho roxo. Embora a relação entre massa de repolho e concentração no extrato seja linear, ao passarmos de 5 gramas para 50 gramas a concentração não aumentou 10 vezes, mas sim 6,3 vezes.

**Tabela 4.12** – Concentração de antocianinas em função da relação MR/VS.

Massa de repolho (g)	Conc. Corante (mg/L) *	Aumento na MR/VS	Aumento na conc.
M5 = 5,0 **	55,2 ± 0,51	1,0	1,0
M12,5 = 12,5 **	117,8 ± 2,31	2,5	2,1
M20 = 20,0	185,6 ± 8,61	4,0	3,4
M27,5 = 27,5	241,5 ± 11,46	5,5	4,4
M35 = 35,0	274,7 ± 6,26	7,0	5,0
M42,5 = 42,5	315,8 ± 16,54	8,5	5,7
M 50 = 50,0 **	350,0 ± 14,89	10,0	6,3

\*(média ± desvio padrão, repetições = 3,  $\lambda=525$  nm,  $\text{pH}_{\text{leitura}}=3,0$ )

\*\* Foram perdidos três ensaios, nestes casos repetições = 2

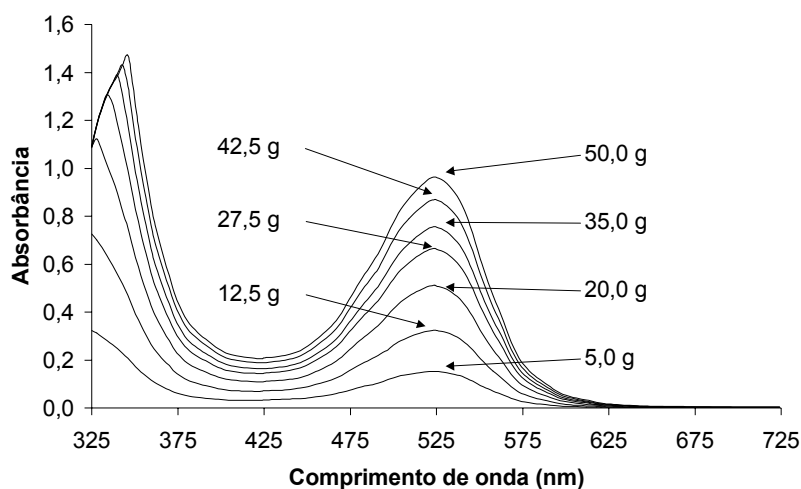
A relação massa de repolho:volume de solvente escolhida foi de 0,25 g/ml, pois o calculo da interpolação dos resultados experimentais mostrou que ao aumentar a massa de repolho em 5 vezes, a concentração de antocianinas extraídas aumenta 4 vezes, o que indica que esta operação pode ser economicamente viável.

O teste de Duncan aplicado às diferentes relações de massa de repolho:volume de solvente mostrou que todas as diferenças de concentração são significativas à medida que aumenta a relação MR/VS, como indicado na Tab. 4.13.

**Tabela 4.13** – Probabilidade para o teste de Duncan aplicado à relação MR/VS.

Massa Repolho	M5	M12,5	M20	M27,5	M35	M42,5	M50
Conc. corante	55,2	117,1	184,8	240,5	274,0	315,1	349,4
M5		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
M12,5	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
M20	0,00	0,00		0,00	0,00	0,00	0,00
M27,5	0,00	0,00	0,00		0,01	0,00	0,00
M35	0,00	0,00	0,00	0,01		0,00	0,00
M42,5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00
M50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	

A Fig. 4.7 mostra que à medida que a massa de repolho aumenta, aumenta também a absorbância do extrato, indicando o aumento na concentração de corante, uma vez que o volume de solução foi mantido constante.



**Figura 4.7** – Espectro de varredura para as diferentes massas testadas para o repolho roxo.

#### 4.2.3.3 Concentração de ácido acético

Uma vez definida a razão sólido:líquido nos ensaios em batelada, partiu-se para o estudo do efeito da concentração do ácido acético a ser usado na sequência dos testes em batelada. Foram testadas várias concentrações de ácido acético e verificado o seu efeito sobre a extração das antocianinas do repolho roxo. A Tab. 4.14 e a Fig. 4.8 mostram os resultados deste estudo.

**Tabela 4.14** – Relação entre a concentração de ácido acético e a concentração de corante obtida na extração.

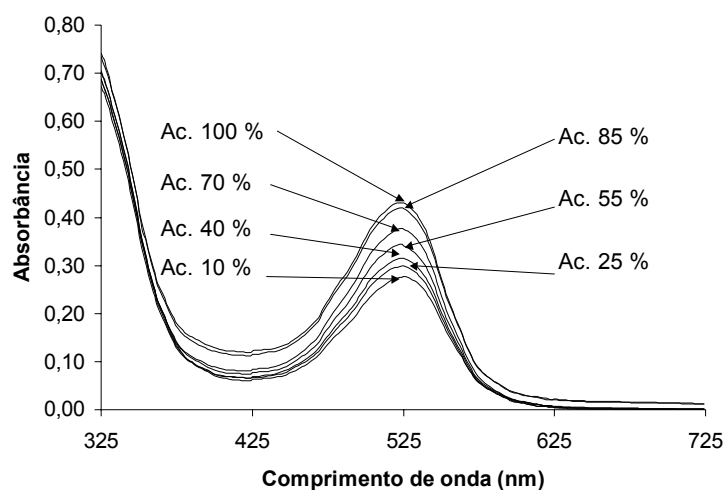
Conc. de ác. cético (% em volume)	Conc. de corante (mg/L)	Aumento na conc. de ácido acético	Aumento na conc. de corante
10	192,0 ± 12,18	1,0	1,00
25	207,7 ± 17,40	2,5	1,08
40	218,8 ± 11,89	4,0	1,14
55	238,4 ± 10,97	5,5	1,24
70	261,5 ± 1,06	7,0	1,36
85	291,3 ± 4,46	8,5	1,52
100	298,5 ± 4,33	10,0	1,55

\*(média ± desvio padrão, repetições = 3,  $\lambda=525$  nm,  $\text{pH}_{\text{leitura}}=3,0$ )

A Tab. 4.15 mostra a comparação múltipla de probabilidades para a concentração de ácido acético usado no processo de maceração e a Fig. 4.8 mostra o espectro de varredura dos ensaios.

**Tabela 4.15** – Probabilidade do teste de Duncan para a concentração de ácido acético.

Conc. Ác. acético Conc. corante	AA10	AA25	AA40	AA55	AA70	AA85	AA100
	192,0	207,7	217,9	236,1	260,4	289,9	298,0
AA10		<b>0,085</b>	0,011	0,000	0,000	0,000	0,000
AA25	<b>0,085</b>		<b>0,250</b>	0,006	0,000	0,000	0,000
AA40	0,011	<b>0,250</b>		0,049	0,000	0,000	0,000
AA55	0,000	0,006	0,049		0,013	0,000	0,000
AA70	0,000	0,000	0,000	0,013		0,004	0,001
AA85	0,000	0,000	0,000	0,000	0,004		<b>0,356</b>
AA100	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	<b>0,356</b>	



**Figura 4.8** – Espectro de varredura para as concentrações de ácido acético testadas para o repolho roxo.

O espectro de varredura apresentado na Fig. 4.8 mostra um leve aumento da absorvância com o aumento da concentração de ácido acético.

Observa-se pelo teste de Duncan que as concentrações de 10 a 25, de 25 a 40 e de 85 a 100% em volume de ácido acético não apresentam diferenças significativas entre si; porém, concentrações superiores a 25% em volume podem tornar o processo inviável economicamente. Devemos ter em mente que o ácido acético é um reagente mais caro do que o repolho roxo usado como matéria-prima. Assim por uma questão de custo foi escolhida a concentração de 10% em volume.

Este valor de concentração do ácido acético será usado a partir de agora para todos os ensaios em batelada subseqüentes.

Durante o planejamento experimental da extração em coluna descrito no item 4.4 a variável controlada nos experimentos foi o pH de extração e não a concentração de ácido acético. A solução de ácido acético 20% em volume tem pH 2,3.

## **4.4 TESTES EM COLUNA**

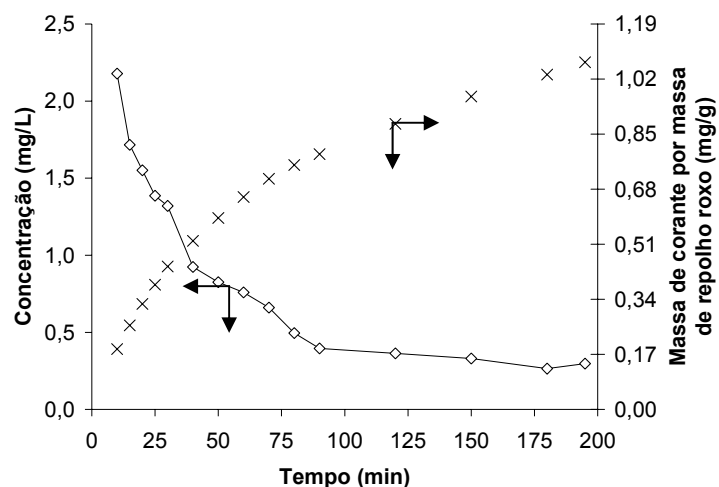
### **4.4.4 Extração em coluna sem recirculação de solvente**

Foram realizados quatro testes de extração contínua com passagem única de solvente sem recirculação.

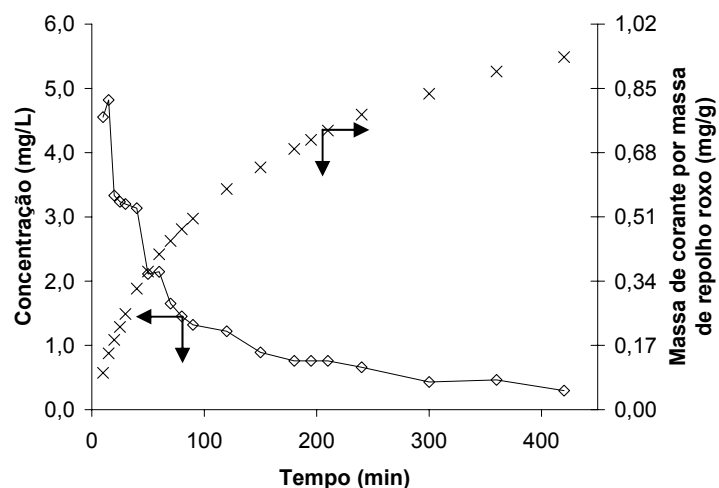
Durante estes testes foi acompanhada a evolução da extração de antocianinas do repolho roxo.

Trabalhou-se com as vazões de 4 L/h (Fig. 4.9), 1 L/h (Fig. 4.10) e 0,3 L/h (Figuras 4.11 e 4.12). A única vazão que permitiu extrair praticamente toda a antocianina presente no repolho roxo foi a de 0,3 L/h, exigindo 48 horas de extração para tal e um volume de solvente de 14,4 L.



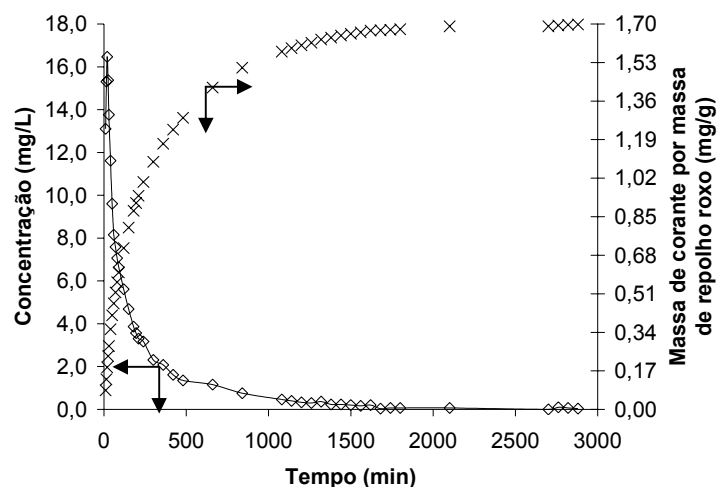


**Figura 4.9** – Evolução da concentração de corante na saída da coluna e da massa de corante extraído do repolho roxo em função do tempo na vazão de 4 L/h.



**Figura 4.10** – Evolução da concentração de corante na saída da coluna e da massa de corante extraído do repolho roxo em função do tempo na vazão de 1 L/h.

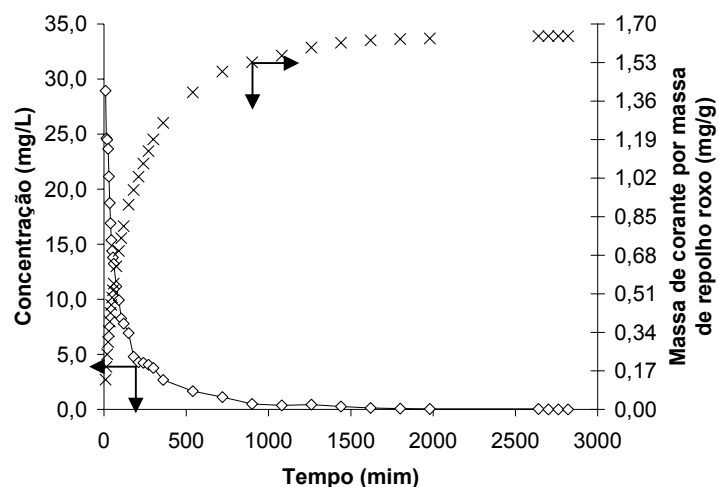
As vazões de 4 e 1 L/h consumiram um volume considerável de solvente (48 e 24 L, respectivamente), fato que acabou inviabilizando a condução do experimento após 200 e 400 minutos de extração, aproximadamente. A massa de corante extraída por massa de repolho roxo (mg/g) observada nas Figuras 4.10 e 4.11 mostra que a extração atingiu aproximadamente 54% do teor de antocianinas presentes, conforme cálculo apresentado na Tab. 4.16.



**Figura 4.11** – Evolução da concentração de corante na saída da coluna e da massa de corante extraído do rep. roxo em função do tempo na vazão de 0,3 L/h.

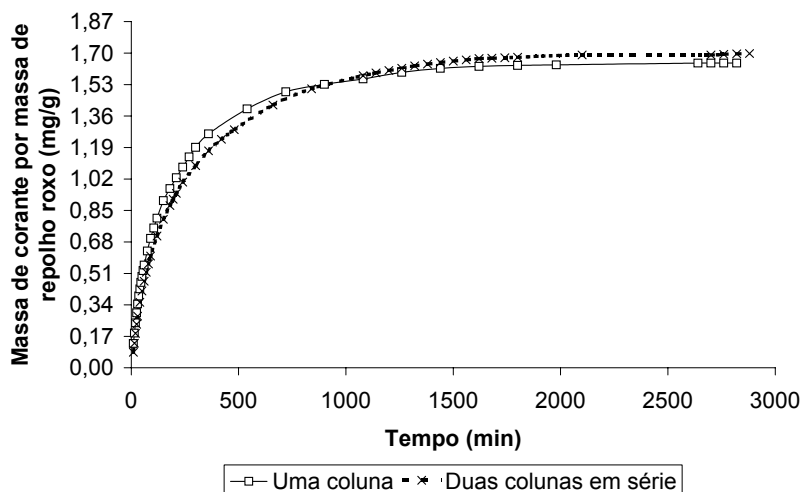
Em um dos ensaios (Fig. 4.12) foram acopladas em série duas colunas de vidro idênticas para verificar o tempo necessário para o esgotamento do corante. Este processo permitiu melhor aproveitar a passagem do solvente, gerando o dobro da massa de repolho esgotado para os ensaios subseqüentes de reabsorção de antocianinas.

O tempo de 48 horas de extração contínua foi suficiente para esgotar o repolho roxo presente nas duas colunas em série, com vazão de 0,3 L/h. A quantidade de corante extraída, durante o processo de esgotamento, foi de 1,7 miligrama de corante para cada grama de repolho roxo. Este valor foi considerado como a quantidade máxima de antocianinas que o ácido acético pôde extrair.



**Figura 4.12** – Evolução da concentração de corante na saída da coluna e da massa de corante extraído do repolho roxo função do tempo na vazão de 0,3 L/h, com o sistema operando com duas colunas em série.

Na Fig. 4.13 é feita a comparação do ensaio utilizando as duas colunas em série e do ensaio utilizando apenas uma coluna de extração.



**Figura 4.13** – Comparativo da evolução da massa de corante extraída do repolho roxo em função do tempo na vazão de 0,3 L/h, com o sistema operando com uma coluna ou com duas colunas em série.

A Figura 4.13 mostra que a utilização de duas colunas em série não modificou significativamente a massa de corante extraída em diferentes tempos.

As duas curvas da Fig. 4.13 são similares e os resultados finais de extração de corante permitiram identificar o conteúdo total de corante que pode ser extraído pelo solvente no repolho roxo, pela integração das curvas de concentração na saída da coluna ao longo do tempo.

A Tab. 4.16 resume os dados sobre a fração de corante extraída nos ensaios de extração contínua.

**Tabela 4.16** – Cálculo da fração de corante extraída nos ensaios.

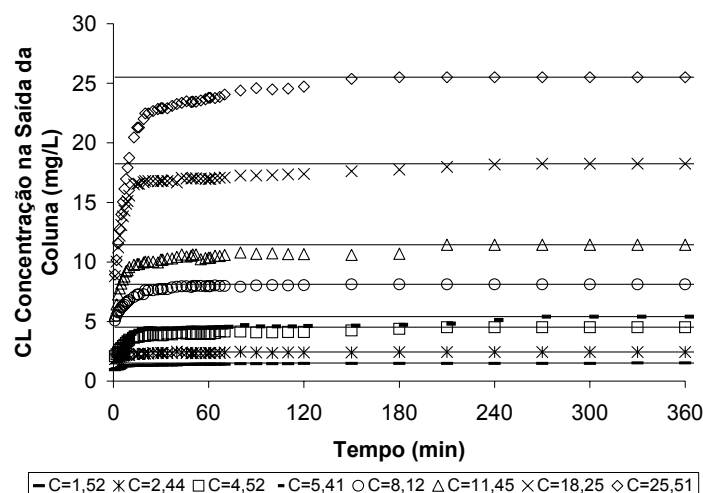
Ensaio de extração contínua	Tempo de ensaio (min)	Massa de corante extraído por massa de repolho (mg/g)	Fração de corante extraída (%)
Vazão = 4 L/h	195	0,91	53,6
Vazão = 1 L/h	420	0,93	54,9
Vazão = 0,3 L/h	2820	1,65	96,8
Vazão = 0,3 L/h (2 colunas em série)	2880	1,70	100,0

Para extrair 90% do corante no ensaio sem recirculação do solvente foram demandados 900 min na vazão de 0,3 L/h e consumidos 4,5 litros de solução de extração em pH 3.0. A correção de pH da solução de ácido acético (inicialmente 5% em volume) foi conduzida com NaOH 10% em peso. Tanto a baixa concentração inicial de ácido acético, como também a pequena vazão de recirculação garante a economia de reagente durante a extração do corante.

#### 4.4.4 Reabsorção

Nos ensaios de reabsorção o repolho roxo resultante do processo de extração contínua (livre de antocianinas) foi colocado em contato com soluções de diferentes concentrações de antocianinas. Cada novo ensaio iniciava com a passagem sem recirculação da solução de antocianinas através do recheio de repolho roxo exaurido de antocianinas. Em seis ensaios diferentes acompanhou-se

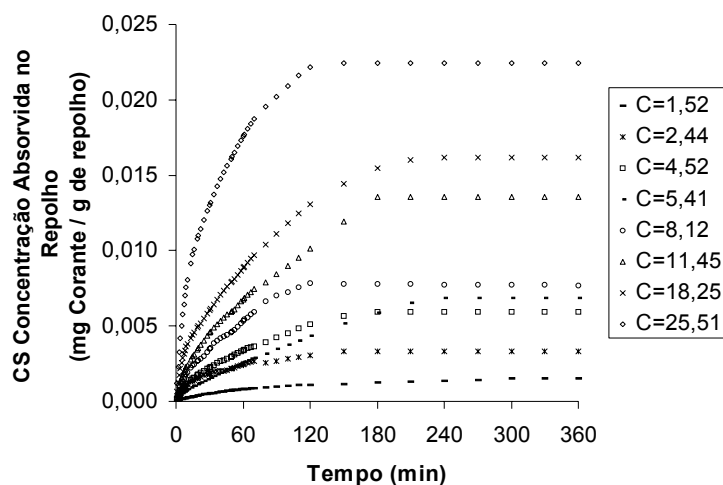
a cinética de reabsorção de antocianinas pelo repolho exaurido, durante 360 minutos, conforme mostra a Fig. 4.14.



**Figura 4.14** – Evolução da concentração de antocianinas na saída da coluna (mg/L).

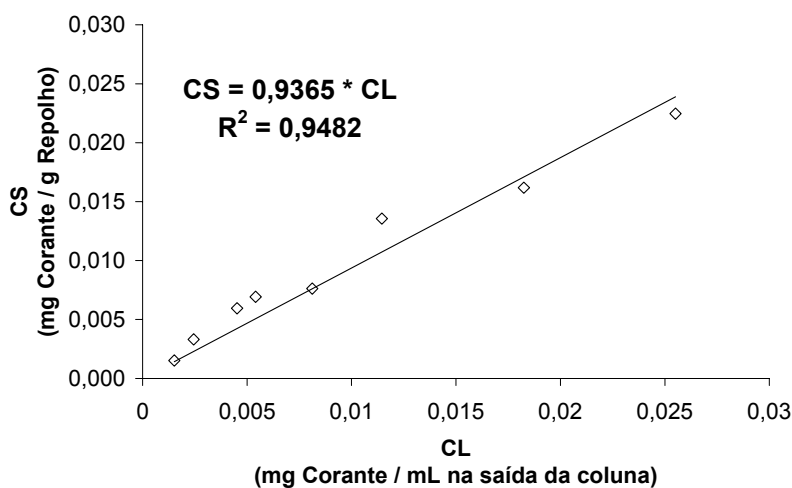
Através da integração de cada uma das curvas de concentração na saída da coluna exibidas na Figura 4.14 foi calculado o valor da massa de corante (mg) incorporada por massa de repolho roxo exaurido (g) no interior da coluna em cada intervalo de tempo, conforme ilustrado na Fig. 4.15.

A reabsorção das antocianinas presentes na fase líquida pela fase sólida não restituiu a quantidade original presente no repolho roxo in natura. Durante a extração ocorre uma descaracterização estrutura química da membrana celular, resultando em uma alteração da permeabilidade da mesma, pois o solvente utilizado no processo extrai não somente as antocianinas. A extração ácida também faz com que a antocianina sofra acilação, deslocando o equilíbrio químico. A partir destas alterações apenas uma fração do teor antociânico inicial pode ser recuperado após seis horas de reabsorção para as seis concentrações testadas, conforme as Figuras 4.14 e 4.15, tempo a partir do qual a capacidade absorviva do leite é praticamente nula (a concentração de corante na fase líquida que sai da coluna é igual à concentração na entrada).



**Figura 4.15** – Reabsorção do corante repolho inicialmente exaurido.

As Figuras 4.14 e 4.15 mostram que a partir de 180 minutos o processo de reabsorção não evolui mais, indicando que o repolho roxo não absorve mais a solução de antocianinas que permeia o leito na concentração do ensaio. A partir das concentrações absorvidas ao final de 180 minutos foi possível estabelecer uma relação linear entre as concentrações de corante presentes na fase líquida e na fase sólida, exibida na Fig. 4.16.



**Figura 4.16** – Relação da distribuição do corante entre as fases sólida e líquida após 6 horas de reabsorção.

Na Tab. 4.17 são apresentados os dados usados na regressão linear da Fig. 4.16. Note-se apenas que a concentração de corante na saída da coluna apresentada na Figura 4.14 foi convertida para mg/mL.

**Tabela 4.17** – Comparativo entre as massas absorvidas no repolho e o percentual relativo à concentração de corante no repolho *in natura*.

Concentração na fase líquida (mg/mL)	Massa de corante reabsorvida por massa de repolho (mg/g)	Massa de corante reabsorvida pela massa de corante no repolho <i>in natura</i> (%)
0,00152	0,00151	0,089
0,00244	0,00331	0,195
0,00452	0,00596	0,350
0,00541	0,00685	0,407
0,00812	0,00776	0,448
0,01145	0,01357	0,798
0,01825	0,01618	0,952
0,02551	0,02247	1,322

A taxa de re-incorporação do corante calculada pela Figura 4.16 mostra que para cada 1 mg/mL de corante presente na fase líquida, 0,9365 mg são absorvidos em cada grama de repolho roxo, quando o equilíbrio é finalmente atingido. No vegetal *in natura* esta concentração é de 1,7 mg de corante por grama de repolho roxo, ou seja, para re-incorporar 1,7 mg de corante a 1 grama do vegetal exaurido é necessária uma concentração de 1,8085 mg/mL na solução, extrapolando-se a equação da reta.

A conclusão do estudo foi que o repolho roxo apresentou um bom índice de reabsorção das antocianinas, mesmo após o esgotamento do corante no tecido vegetal. Após a extração das antocianinas, o extrato precisa ser purificado e concentrado. Nesta nova etapa, a utilização do próprio repolho como auxiliar na recuperação das antocianinas pode ser uma alternativa interessante para promover o reaproveitamento do resíduo vegetal.

## 4.4 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

### 4.4.4 Planejamento fracionário

Para o estudo dos efeitos das cinco variáveis escolhidas: concentração de NaCl (CS), pH de extração (PH), vazão de recirculação do solvente (VZ), volume de solvente recirculado (VS) e massa de repolho roxo (MR) foi conduzido um planejamento  $2^{5-1}_v$ , onde foi monitorada a concentração de corante no sobrenadante (mg/L) após seis horas de extração. Um planejamento fatorial completo consumiria 32 experimentos, enquanto que a meia fração adotada permite estudar os efeitos principais com 16 experimentos. A Tab. 4.18 descreve os experimentos realizados e a concentração obtida no sobrenadante para cada ensaio.

**Tabela 4.18** - Triagem das variáveis expressa em concentração no extrato líquido.

Ensaio	Fatores					Resposta Conc. Corante sobrenadante (mg/L)
	Conc. NaCl	pH de extração	Vazão de recirculação	Volume de solvente	Massa de repolho	
1	1,0	3,0	4,5	1,0	50	9,637
2	2,5	3,0	4,5	1,0	30	8,845
3	1,0	5,0	4,5	1,0	30	1,485
4	2,5	5,0	4,5	1,0	50	3,878
5	1,0	3,0	6,0	1,0	30	4,158
6	2,5	3,0	6,0	1,0	50	15,248
7	1,0	5,0	6,0	1,0	50	5,116
8	2,5	5,0	6,0	1,0	30	1,568
9	1,0	3,0	4,5	1,5	30	4,059
10	2,5	3,0	4,5	1,5	50	5,479
11	1,0	5,0	4,5	1,5	50	3,218
12	2,5	5,0	4,5	1,5	30	0,908
13	1,0	3,0	6,0	1,5	50	4,983
14	2,5	3,0	6,0	1,5	30	4,620
15	1,0	5,0	6,0	1,5	30	1,238
16	2,5	5,0	6,0	1,5	50	1,485

Podemos observar na Tab. 4.18, que a concentração de corante extraída no processo em coluna é baixa quando comparada àquela do processo em batelada. Isto pode ser atribuído à maior diluição da concentração presente no processo com



recirculação e também à decisão de utilizar o pH de extração como variável de processo. Em função do controle de pH, o ácido acético foi neutralizado com NaOH 10% para manter o controle do pH durante a operação de extração.

Nos ensaios em coluna o tamanho das partículas foi o mesmo adotado para os ensaios em batelada.

#### 4.4.4 Análise estatística da triagem de variáveis.

Com os valores experimentais expressos na Tab. 4.18, realizou-se uma análise estatística dos efeitos associados aos cinco fatores estudados (CS, PH, VZ, VS e MR).

Os intervalos de confiança mostrados na Tab. 4.19 foram calculados ao nível de confiança de 95%. O fato do intervalo de confiança não conter o valor zero, indica que o fator em análise é considerado significativo no nível de confiança testado. Os fatores significativos para o processo de extração em coluna com recirculação de solvente são marcados em negrito na Tab. 4.19.

Como resultado da análise de significância estatística, conclui-se que os efeitos do pH, do volume de solvente recirculado e da massa de repolho roxo são os mais importantes para a extração contínua, ao nível de confiança de 95% (valor  $p < 0,05$ ).

**Tabela 4.19** - Intervalos de confiança dos efeitos CS, PH, VZ, VS e MR para a extração em coluna com recirculação.

Fator	Efeito	LI do IC	LS do IC
<b>Média</b>	<b>4,745</b>	<b>3,469</b>	<b>6,021</b>
CS	1,017	-1,535	3,569
<b>PH</b>	<b>-4,767</b>	<b>-7,318</b>	<b>-2,215</b>
VZ	0,113	-2,438	2,665
<b>VS</b>	<b>-2,993</b>	<b>-5,545</b>	<b>-0,441</b>
<b>MR</b>	<b>2,770</b>	<b>0,219</b>	<b>5,322</b>

onde LI e LS são o limite inferior e o limite superior, respectivamente, do intervalo de confiança (IC).

A análise física do sinal algébrico dos efeitos encontrados está de acordo com o conhecimento que se tem dos fenômenos envolvidos:

- O aumento da concentração de sal induz uma melhora na força iônica do meio e auxilia o processo de extração;
- Quanto mais baixo o pH de extração maior a quantidade de antocianinas extraídas;
- O aumento da vazão contribui para o processo de transferência de massa, reduzindo a resistência convectiva na superfície das partículas;
- Quanto maior o volume, maior o efeito de diluição e menor a concentração.
- Quanto maior a massa de repolho disponível para extração, também maior será a concentração na fase líquida.

A próxima etapa no procedimento de investigação estatística sobre o processo de extração consistiu na expansão dos níveis estudados para os fatores significativos para o processo de extração, com auxílio da metodologia da superfície de resposta do sistema, cuja finalidade é a otimização da extração de antocianinas no processo em coluna com recirculação do solvente.

#### **4.4.4 Metodologia de superfícies de resposta (MSR)**

Para obter um modelo de superfície de resposta foram elaborados 16 novos experimentos com as três variáveis significativas detectadas na triagem de variáveis, com a solução de extração operando a uma vazão de recirculação de 6 L/h (o efeito da vazão sobre a capacidade de extração foi praticamente nulo, optando-se pela vazão mais fácil de controlar) e sem a adição de NaCl para prover o incremento da força iônica ao meio. Para obter o modelo estatístico foram introduzidos mais três níveis de experimentação (0 e  $\pm\alpha$ ) e foi monitorada a concentração de corante presente no sobrenadante. O planejamento experimental

e os resultados de concentração de corante para os 16 ensaios realizados está sumarizada na Tab. 4.20.

**Tabela 4.20** – Planejamento experimental para obtenção da superfície de resposta.

Ensaio	PH	Fatores		Resposta conc. corante sobrenadante (mg/L)
		VS (L)	MR (g)	
1	3,0	1,00	30,0	8,178
2	5,0	1,00	30,0	4,462
3	3,0	1,50	30,0	6,502
4	5,0	1,50	30,0	1,967
5	3,0	1,00	50,0	10,231
6	5,0	1,00	50,0	6,752
7	3,0	1,50	50,0	7,300
8	5,0	1,50	50,0	3,960
9	2,3	1,25	40,0	10,990
10	5,7	1,25	40,0	2,937
11	4,0	0,83	40,0	8,515
12	4,0	1,67	40,0	4,851
13	4,0	1,25	23,2	3,102
14	4,0	1,25	56,8	6,502
15C	4,0	1,25	40,0	5,482
16C	4,0	1,25	40,0	6,548

As amostragens de extrato foram coletadas na saída da coluna de extração após o período de seis horas.

#### 4.4.4 Análise estatística da metodologia de superfície de resposta

A análise estatística dos valores experimentais encontrados no planejamento relatado na Tab. 4.20 permitiu determinar os efeitos das variáveis de processo: pH, volume de solvente em recirculação fechada e massa de repolho roxo durante a extração contínua.

Os resultados da análise estatística estão discriminados na Tab. 4.21, permitindo identificar (em negrito) os efeitos significativos para a modelagem estatística. Na análise estatística foi considerado o modelo quadrático. Para cada um dos fatores estudados são associados um coeficiente de regressão linear (L) e um coeficiente de regressão quadrático (Q). Na Tab. 4.21,  $t(12)$  é o valor calculado

para o índice t de Student, com 12 graus de liberdade, enquanto o valor p é a probabilidade associada ao valor de t calculado na coluna anterior. No nível de significância de 95%, valores p inferiores a 0,05 são considerados significativos e marcados em negrito na Tab. 4.21.

**Tabela 4.21 – Análise de significância estatística dos efeitos.**

Efeito	Valor do Efeito	Erro padrão	t (12)	Valor p
<b>Média/Interações</b>	<b>6,013</b>	<b>0,363</b>	<b>16,554</b>	<b>0,000</b>
<b>PH (L)</b>	<b>-4,174</b>	<b>0,277</b>	<b>-15,045</b>	<b>0,000</b>
PH (Q)	0,665	0,333	1,999	0,093
<b>VS (L)</b>	<b>-2,352</b>	<b>0,279</b>	<b>-8,437</b>	<b>0,000</b>
VS (Q)	0,482	0,340	1,421	0,205
<b>MR (L)</b>	<b>1,883</b>	<b>0,279</b>	<b>6,753</b>	<b>0,001</b>
<b>MR (Q)</b>	<b>-0,851</b>	<b>0,340</b>	<b>-2,505</b>	<b>0,046</b>
PH-VS	-0,170	0,364	-0,467	0,657
PH-MR	0,358	0,364	0,983	0,363
VS-MR	-0,388	0,364	-1,065	0,328

Através da análise dos efeitos deste planejamento foi verificado que são significativos: a média, os termos lineares do pH, do volume de solvente recirculado e da massa de repolho, além do termo quadrático da massa.

A partir da regressão, os coeficientes do modelo foram calculados, como mostra a Eq. 4.1. Nesta equação foram considerados apenas os fatores estatísticos significativos. O coeficiente de determinação  $R^2$  foi de 0,9659.

$$\text{Conc} = 7,54575 - 2,08702 \text{ PH} - 4,70475 \text{ VS} + 0,57265 \text{ MR} - 0,00598 \text{ MR}^2 \quad (4.1)$$

onde Conc = concentração de corante no sobrenadante;

PH = pH de extração;

VS = volume de solvente recirculado;

MR = massa de repolho.

A análise de variância (ANOVA) do modelo proposto na Eq. 4.1 é mostrada na Tab. 4.21. É possível verificar que a soma quadrática dos resíduos é pequena frente à soma quadrática da regressão, indicando que o modelo é bom e consegue explicar 96,59% da variação total.

**Tabela 4.22 – Análise de variância do modelo.**

Fonte da variação	Soma quadrática	Graus de liberdade ( $\nu$ )	Média quadrática	$F(\nu_1, \nu_2)$ calculado	$F(\nu_1, \nu_2)$ Tabelado
Regressão	95,39	4 ( $\nu_1$ )	23,85	77,80	3,36
Resíduos	3,37	11 ( $\nu_2$ )	0,31		
F Ajuste	2,80	10 ( $\nu_1$ )	0,28		
Erro Puro	0,57	1 ( $\nu_2$ )	0,57	0,49	241,88
Total	98,76	15			

Variação explicada: 96,59%

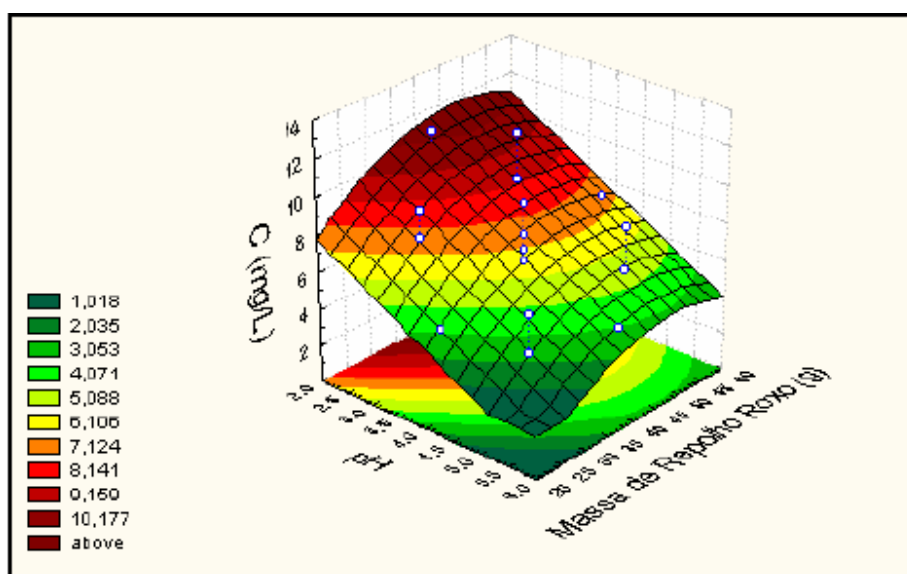
Variação máxima explicável: 99,42%

A análise estatística através do valor da distribuição F para relacionar os resíduos frente à regressão apresenta um valor de F calculado 23 vezes superior ao valor de F Tabelado. Assim sendo, os resíduos não são significativos frente à regressão e o modelo pode ser usado para fins de predição (BARROS NETO et al., 1996).

O erro puro é desprezível, o que implica em uma variação máxima explicável próxima de 100%.

A superfície gerada pelo modelo (Eq. 4.1) é mostrada na Fig. 4.17, para as variáveis pH e massa de repolho roxo.

A condição ótima do modelo dentro da faixa de estudo é pH=2,3, VS=0,83 L e MR=48 g, onde a massa de corante extraída foi de 0,21 mg/g de repolho roxo, obtendo-se uma concentração de 12,5 mg/L de corante no tanque de recirculação do solvente. No ensaio de esgotamento, ao extrair-se 0,21 mg/g do corante presente no repolho roxo, a concentração do corante na saída da coluna era de 2,1, 3,4 e 13,8 mg/L para as vazões de 4,0, 1,0 e 0,3 L/h, respectivamente. Uma vantagem do processo com recirculação do solvente é que a maior concentração do corante na fase líquida implica em uma redução da energia necessária para concentrar e purificar o corante.



**Figura 4.17** – Superfície de concentração do corante no sobrenadante para os fatores pH e massa de repolho roxo.

Verifica-se que a região ótima está localizada em valores baixos de pH. Valores menores de pH poderiam ser usados na extração. O deslocamento da superfície no sentido de aumentar a relação MR/VS permitirá aumentar a concentração de antocianinas no solvente recirculado. Estas alterações foram introduzidas nos experimentos cinéticos que foram modelados e simulados no capítulo 5.

## **5 Modelagem e simulação dos experimentos em batelada e em coluna**

Neste capítulo, serão apresentadas as condições e as hipóteses consideradas no processo de modelagem e simulação da extração em batelada e em coluna. A partir da descrição formal do modelo matemático e da posterior implementação computacional, foi possível resolver numericamente todas as equações e condições de contorno envolvidas no processo de extração.

O conhecimento da distribuição de concentração do corante em equilíbrio entre a fase líquida e a fase sólida, permitiu o acoplamento entre as equações diferenciais de transferência de massa que relacionam as concentrações de corante no interior da partícula e no meio líquido; as quais devem ser resolvidas simultaneamente a cada passo de tempo computacional.

O ajuste dos parâmetros de transferência de massa, a partir dos dados experimentais, permite avançar no conhecimento sobre a extração do corante desde o interior da partícula até o seio da solução. É identificada assim a etapa reguladora do processo, são comparados os sistemas extrativos e determinado o grau de extração obtido. Com este conjunto de informações, é possível propor uma série de melhorias na operação de extração, oriundas tanto da manipulação das variáveis de processo, como do dimensionamento de formas de contato inovadoras, passo inicial para o desenvolvimento de novas tecnologias.

### **5.1 Relação de distribuição do corante entre as fases**

A curva de concentração de equilíbrio relaciona a concentração de soluto existente no interior do sólido e a concentração de soluto na fase fluida a uma determinada temperatura. Esta relação de distribuição é importante, pois permite acoplar as equações do balanço de massa obtidas para as fases sólida e líquida.

Nos ensaios em batelada e em coluna com recirculação de solvente, o sistema tende a atingir o equilíbrio com o passar do tempo. Assim, a relação de distribuição pode ser utilizada para se conhecer previamente a concentração que será obtida em cada uma das fases. No processo de extração em coluna sem recirculação, o sistema está em constante desequilíbrio, pois o solvente virgem é alimentado continuamente pela base da coluna. Para este caso específico, a relação de distribuição foi considerada para expressar a quantidade de corante remanescente na fase sólida com o passar do tempo, em função do avanço do processo extrativo. Existem diversos modelos empíricos utilizados na descrição de relações de distribuição. Neste trabalho, o que melhor se adaptou aos dados experimentais foi o modelo baseado na lei de potência.

#### 5.1.1 Relação de potência

Um modelo de distribuição na forma de potência considera a retenção do corante ocorrendo em multicamadas, podendo ser utilizado para descrever o processo extrativo que ocorre nas superfícies heterogêneas. A Eq. 5.1 apresenta o modelo de potência que foi utilizado.

$$q_{eq} = K C_{eq}^n \quad (5.1)$$

onde: K e n são parâmetros empíricos, ajustados por regressão aos dados experimentais.

À semelhança da isoterma de Freundlich, o valor de n indica se a relação de distribuição é favorável ou desfavorável à retenção do soluto no sólido. Para n menor do que 1 existe a tendência do soluto permanecer no sólido e o valor de n maior do que 1 indica que o soluto tende a migrar para a fase líquida.

Para determinar os valores dos parâmetros K e n na Eq. 5.1, pode-se adotar a forma linearizada:



$$\log q_{eq} = \log K + n \log C_{eq} \quad (5.2)$$

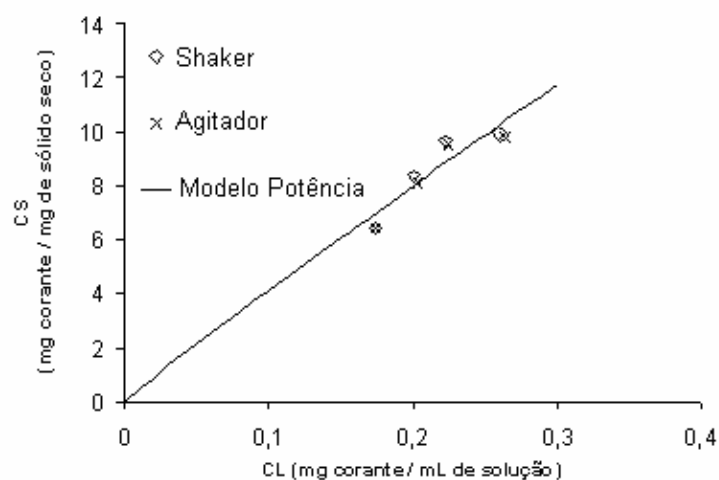
## 5.2 Ajuste da relação de distribuição do corante aos dados experimentais

Os dados experimentais para o cálculo dos parâmetros do modelo de potência foram obtidos das concentrações finais dos ensaios cinéticos em batelada e em coluna após 24 horas de extração, tempo em que se atingiu o equilíbrio. A Tab. 5.1 apresenta os dados experimentais em batelada e a Tab. 5.2 os dados experimentais em coluna. As relações MR/VS utilizadas foram apresentadas previamente no Item 3.5. As Figuras 5.1 e 5.2, mostram os pontos previstos pelo modelo e os valores observados experimentalmente.

**Tabela 5.1**– Ajuste da relação de distribuição aos dados de equilíbrio em batelada.

Processo	Tipo de agitação	Relação MR/MS (g/ml)	Concentração de equilíbrio no líquido (mg/ml) *	Concentração de equilíbrio no sólido seco (mg/g)
Batelada	<i>Shaker</i>	0,15	0,174	6,467
		0,20	0,200	8,383
		0,25	0,223	9,677
		0,30	0,260	9,980
	Agitador magnético	0,15	0,174	6,467
		0,20	0,204	8,144
		0,25	0,225	9,581
		0,30	0,264	9,820
Ajuste	Parâmetro	K	n	Correlação
	Valor	37,309	0,958181	0,922703

\*Repetições = 3

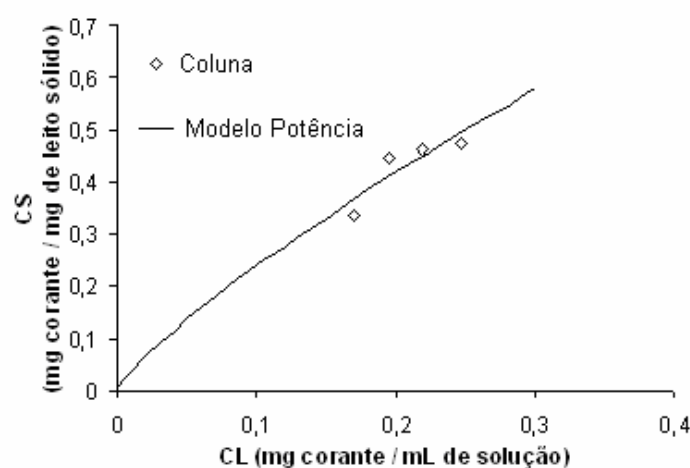


**Figura 5.1** – Gráfico dos valores previstos e observados para a relação de distribuição em batelada.

**Tabela 5.2** – Ajuste da relação de distribuição aos dados de equilíbrio em coluna.

Processo	Relação MR/MS (g/ml)	Concentração de equilíbrio no líquido (mg/ml) *	Concentração de equilíbrio no leito seco (mg/g) **
Coluna	0,15	0,170	0,336
	0,20	0,195	0,448
	0,25	0,219	0,464
	0,30	0,247	0,477
Parâmetro	K	n	Correlação
Valor	1,52864	0,80415	0,873983

\*Repetições = 8; \*\* Considerada a massa de esferas e repolho seco presente no leito.



**Figura 5.2** – Gráfico dos valores previstos e observados para a relação de distribuição em coluna.

O valor da correlação obtido para o ajuste dos dados de equilíbrio para o modelo de potência foi satisfatório, tanto para os ensaios em batelada, como em coluna, sendo por isso adotado na simulação computacional.

Tanto no caso da modelagem da extração em batelada, como no caso da extração em coluna, foi considerado que o repolho roxo é composto de uma matriz sólida onde o corante fica retido, circundado pela fase líquida representada pela umidade do vegetal; estando as duas fases em perfeito equilíbrio.

### **5.3 Dinâmica do processo de extração**

Até que o sistema extrativo atinja o equilíbrio existe uma fase de transição na qual a velocidade com que o corante é removido do interior da partícula para o seio da fase líquida é um fenômeno importante, pois determina diretamente a eficácia e viabilidade da operação de extração. Processos mais velozes permitirão um processamento em maior escala, equipamentos com menor tempo de residência (mais compactos) e melhor utilização dos insumos (redução dos custos específicos com matéria-prima).

A taxa na qual o corante é extraído resulta de uma combinação dos efeitos de transporte associados à passagem do soluto do interior da partícula até o meio líquido externo, processo este cuja força motriz é dada pela diferença de potencial químico entre as fases sólida e líquida.

### **5.4 Modelagem da extração em batelada**

Na extração em batelada, as equações matemáticas descrevem os mecanismos simultâneos de difusão intrapartícula e convecção na superfície externa da partícula. Assim, pode ser obtido para cada tempo o perfil de concentração de corante desde o centro da partícula até o meio aquoso que a circunda.

#### 5.4.1 Modelo transiente de difusão com resistência externa à partícula

As seguintes hipóteses são assumidas para equacionar o modelo:

- A transferência de massa do corante desde o interior dos poros da partícula até a solução é governada pelo modelo de camada limite caracterizado pelo coeficiente de transferência de massa,  $K_{\text{conv}}$ .
- As partículas de repolho são rígidas, homogêneas e com porosidade e tamanho uniforme;
- O repolho roxo é considerado um material poroso, onde ocorre a difusão do soluto;
- As partículas de repolho roxo são representadas como esferas de raio  $R$  calculado para manter a mesma relação área:volume existente nas placas planas resultantes do processo de corte (o leito de partículas na extração em coluna contém pérolas de vidro);
- O coeficiente de difusão intraparticular é suposto constante e dado por um  $D_{\text{ef}}$ .
- A fase líquida externa à partícula é uma mistura ideal (corante + solvente), o que possibilita o uso de uma concentração global representativa da mesma;
- A relação de distribuição do soluto é modelada segundo a lei de potência;
- A concentração do meio varia como função do tempo, sendo que o potencial de transferência de massa na superfície da partícula assume um valor instantâneo.

A Eq. 5.3 fornece a variação da concentração do corante com o tempo na fase líquida fora da partícula. Considera-se que a variação da concentração no meio líquido é decorrente da diferença de potencial de concentração entre o líquido fora da partícula e o líquido no interior da partícula, sendo o processo de transferência de massa regulado por uma resistência de natureza convectiva, além de depender da quantidade e tamanho das partículas e do volume de líquido presente no sistema:

$$\frac{dC_l}{dt} = -\frac{3 K_{\text{conv}} MR}{R VS \rho_{\text{ap}}} (C_l - C_i) \Big|_{r=R} \quad (5.3)$$

Condição inicial:

$$C_l = \text{constante para } t = 0, \forall r \quad (5.4)$$

onde:  $C_l$  concentração de corante na fase líquida fora da partícula ( $\text{ML}^{-3}$ );  
 $C_i$  concentração de corante no interior da partícula ( $\text{ML}^{-3}$ );  
 $t$  tempo (T);  
 $K_{\text{conv}}$  coeficiente de transferência de massa convectivo no filme ( $\text{LT}^{-1}$ );  
 $MR$  massa total de repolho roxo (M);  
 $R$  raio da partícula esférica (L);  
 $VS$  volume de solvente ( $\text{M}^3$ );  
 $\rho_{\text{ap}}$  densidade aparente da partícula ( $\text{ML}^{-3}$ ).  
 $r$  posição radial (L).

A Eq. 5.5 representa o balanço diferencial de massa de soluto para uma partícula esférica, incluindo a parcela representativa da extração do soluto, dada pelo segundo termo do lado direito da Equação.

$$\varepsilon_p \frac{\partial C_i}{\partial t} = D_{\text{ef}} \varepsilon_p \left( \frac{\partial^2 C_i}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial C_i}{\partial r} \right) - \rho_{\text{ap}} \frac{\partial q_i}{\partial t} \quad (5.5)$$

Condição inicial:  $t=0$ ;

Concentração de corante presente inicialmente na fase líquida do repolho roxo em equilíbrio com a concentração de corante presente na matriz sólida:

$$C_i = \text{constante para } \forall r \quad (5.5.a)$$

Concentração de corante presente na fase sólida:

$$q_i = \text{constante para } \forall r \quad (5.5.b)$$

Condições de contorno:

a. Simetria no centro da partícula:

$$r = 0; \frac{\partial C_i}{\partial r} = 0 \quad \text{para } \forall t \quad (5.5.c)$$

b. Continuidade do fluxo de massa na superfície externa:

$$r = R; \frac{\partial C_i}{\partial r} = \frac{K_{\text{conv}}}{D_{\text{ef}}} (C_l - C_i) \quad \text{para } \forall t \quad (5.5.d)$$

com:

$$q_i = f(C_i) \quad \text{para } \forall r \quad (5.5.e)$$

onde:  $\varepsilon_p$  porosidade da partícula sólida;  
 $D_{\text{ef}}$  coeficiente de difusão efetiva ( $L^2T^{-1}$ );  
 $q_i$  quantidade de corante presente no interior do sólido por massa de repolho roxo presente no sistema ( $MM^{-1}$ ).

À medida que o corante é extraído do interior da partícula e transportado por difusão para o meio líquido, a concentração de corante no líquido aumenta com o tempo.

A solução da Eq. 5.5, juntamente com as condições iniciais e de contorno, é resolvida pelo método dos volumes finitos.

A condição inicial (Eq. 5.5.a) indica que a concentração na fase líquida do interior do repolho roxo (basicamente a umidade do vegetal) está em equilíbrio com a concentração do sólido, sendo calculada a partir da relação de distribuição do soluto entre as fases. A Eq. 5.5.b fornece para o tempo  $t=0$ , a concentração na matriz sólida obtida no ensaio de esgotamento do repolho roxo (1,7 mg de corante por grama de repolho roxo).

A primeira condição de contorno (Eq. 5.5.c) é uma condição indicativa da inexistência de variação de concentração do corante no centro da partícula. A segunda condição de contorno (Eq. 5.5.d) é relativa à resistência a transferência

de massa na camada limite que circunda a partícula e estabelece a continuidade de fluxo, ou seja, o fluxo mássico de soluto que chega por difusão é igual ao fluxo mássico que sai por condução do sólido para o líquido. A função  $f$  da Eq. 5.5.e é dada pela relação de distribuição que segue uma relação tipo lei de potência.

Os dados experimentais de concentração na fase líquida, externa à partícula, são obtidos na forma de uma concentração média ao longo do tempo. Assim o modelo deve expressar os resultados na forma de uma concentração média, calculada pela integração do perfil de concentração no interior da partícula. A Tab. 5.3 mostra o cálculo da derivada parcial temporal para a relação de distribuição do corante e o resultado do cálculo da concentração média para a partícula esférica de raio  $R$ .

**Tabela 5.3** – Cálculo das derivadas parciais e concentrações médias para a concentração de corante no interior da partícula

Modelo	Lei de Potência
Equação	$q_{eq} = K C_{eq}$
Derivada parcial temporal	$\frac{\partial q_{eq}}{\partial t} = K n C_{eq}^{n-1} \frac{\partial C_{eq}}{\partial t}$ (5.6)
Concentração média	$\bar{C}(t) = C_0^\infty + N_p \frac{3}{R^3} \int_0^R (\varepsilon_p + \rho_{ap} + K n C_{eq}^{n-1}(r, t)) C_{eq}(r, t) r^2 dr$ (5.7)

onde  $C_0^\infty$  é a concentração global na fase externa à partícula no tempo  $t=0$ ,  $\bar{C}(t)$  é a concentração média na solução num certo tempo ( $t$ ), e  $N_p$  é o número de partículas. A concentração média no tempo é dada pela soma entre a concentração inicial na fase líquida e a quantidade de corante extraída no tempo  $t$ .

O Biot de massa relativo ao processo de extração é definido por:

$$Bi = \frac{K_{conv} R}{D_{ef}} \quad (5.8)$$

A Eq. 5.8 estabelece a razão entre a resistência à transferência de massa localizada na região interna e a resistência à transferência de massa na região externa à partícula.

As condições e equações apresentadas para o modelo foram resolvidas pelo método de volumes finitos, levando-se em conta durante os cálculos computacionais, os critérios de unicidade de solução, convergência numérica e fechamento do balanço de massa. Toda a implementação computacional foi feita por Quadri (2004).

#### 5.4.2 Ajuste dos parâmetros do modelo em batelada e simulações

A Tab. 5.4 apresenta as condições experimentais utilizadas durante os ensaios de extração em batelada. Nestes ensaios de extração, o solvente foi o ácido acético 20% em volume (pH=2,0). Todos os ensaios foram realizados em temperatura ambiente, aproximadamente 25 °C.

**Tabela 5.4** – Condições experimentais utilizadas na extração em batelada.

Condições experimentais	Valor	Observação
R (cm)	0,2735	Mesma relação (A/V)* das partículas de repolho
Conc. Inicial de corante no meio líquido externo à partícula (mg mL <sup>-1</sup> )	0,00001	Usada uma pequena concentração inicial (singularidade do modelo de potência em concentração zero)
Conc. Inicial de corante no meio líquido do interior da partícula (mg mL <sup>-1</sup> )	0,4660	Calculada a partir da relação de distribuição, para concentração total no repolho roxo = 1,7 mg g <sup>-1</sup>
Volume de solvente (mL)	200	
$\varepsilon_p$	0,9165	Considerado igual à umidade do repolho roxo
$\rho_{ap}$ (g cm <sup>-3</sup> )	0,07839	Densidade do ensaio de picnometria, corrigida para a matriz sólida.

\*Relação (A/V) significa relação área:volume das partículas de repolho roxo.

Os valores ajustados pelo modelo para a extração do corante do repolho roxo são mostrados nas Tabelas 5.5 e 5.6, para os ensaios com agitação utilizando o *shaker* e o agitador magnético, respectivamente. Através das simulações foi possível obter os parâmetros de transferência de massa  $D_{ef}$  e  $K_{conv}$ .



**Tabela 5.5** – Parâmetros ajustados na extração com *shaker*.

Parâmetros	Relação massa de repolho: volume de solvente (mg mL <sup>-1</sup> )			
	0,15	0,20	0,25	0,30
Massa de repolho roxo (g)	30	40	50	60
Massa de sólido seco (g)	2,505	3,340	4,175	5,010
$D_{ef}(\text{cm}^2 \text{min}^{-1})$	1,367E-06	8,128E-07	7,336E-07	7,730E-07
$K_{conv}(\text{cm} \text{min}^{-1})$	1,090E-04	1,169E-04	8,920E-05	8,524E-05
Biot de massa	21,8	39,3	33,3	30,2
Coefficiente de determinação	0,9958	0,9952	0,9957	0,9937

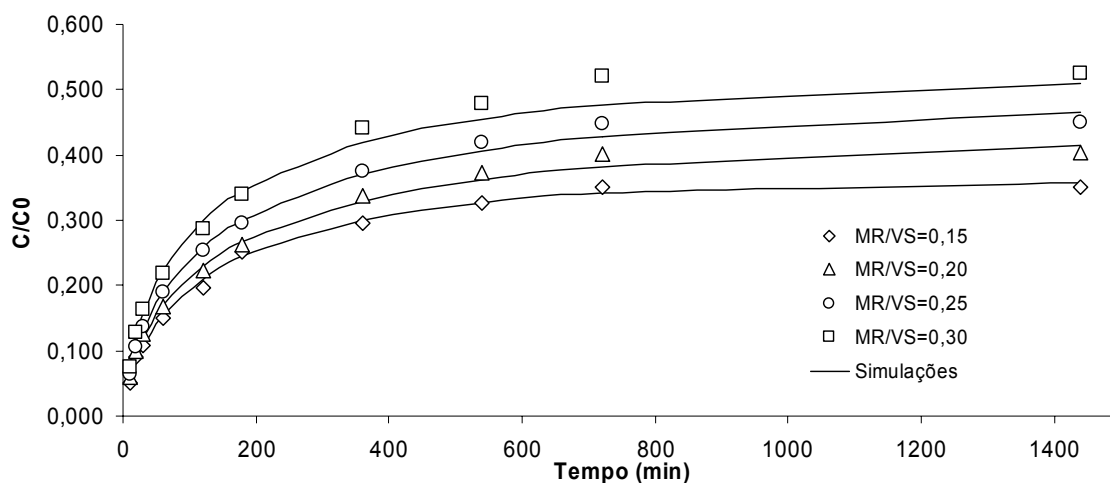
**Tabela 5.6** – Parâmetros ajustados na extração com agitador magnético.

Parâmetros	Relação massa de repolho: volume de solvente (mg mL <sup>-1</sup> )			
	0,15	0,20	0,25	0,30
Massa de repolho roxo (g)	30	40	50	60
Massa de sólido seco (g)	2,505	3,340	4,175	5,010
$D_{ef}(\text{cm}^2 \text{min}^{-1})$	1,288E-06	1,209E-06	1,050E-06	8,492E-07
$K_{conv}(\text{cm} \text{min}^{-1})$	8,128E-05	1,442E-04	1,432E-04	1,009E-04
Biot de massa	17,3	32,6	37,3	32,5
Coefficiente de determinação	0,9966	0,9973	0,9970	0,9979

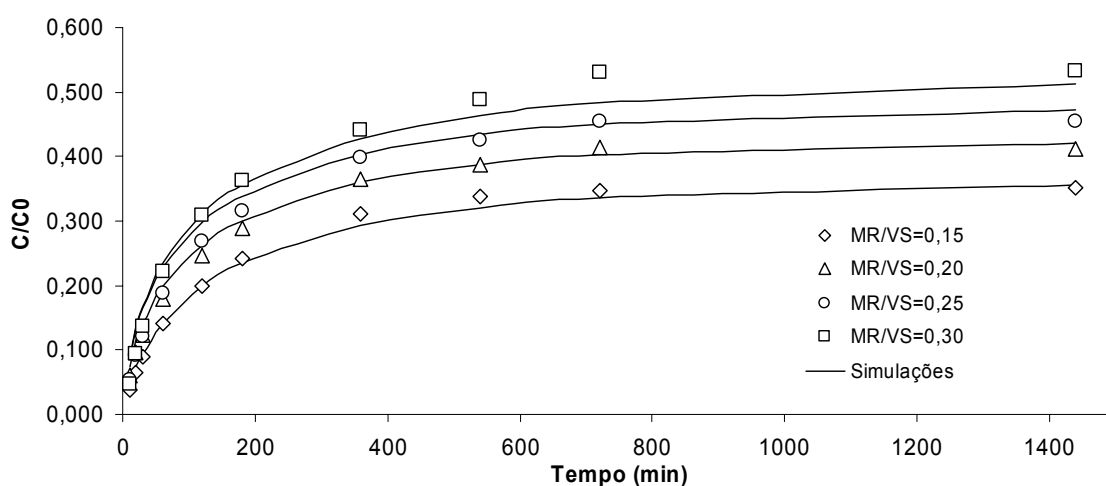
As simulações do programa estão reunidas nas Figuras 5.3 e 5.4, onde se pode observar que existe uma boa descrição dos resultados experimentais através dos valores de simulação da extração em batelada utilizando *shaker* e o agitador magnético, respectivamente.

Os resultados da simulação para o processo de extração em batelada mostraram que o valor do Biot de massa permaneceu próximo para a agitação com *shaker* e com agitador magnético, indicando que a extração nos dois experimentos é equivalente no que concerne às resistências à transferência do corante.

A ordem de grandeza dos parâmetros  $D_{ef}$  e  $K_{conv}$  foi praticamente a mesma nas Tabelas 5.5 e 5.6, revelando que a agitação não parece contribuir significativamente para a melhora na condição de extração. A etapa controladora é representada pela difusão interna, ou seja, é mais difícil para o soluto se deslocar no interior da partícula, do que vencer a resistência externa na superfície da mesma. Naturalmente, uma forma de diminuir a resistência interna seria empregar partículas menores do que 0,32 x 0,71 x 1,03 cm., diminuindo a distância a ser percorrido pelo corante durante a difusão no interior da partícula.



**Figura 5.3** – Simulação dos experimentos em batelada na extração com *shaker*.



**Figura 5.4** – Simulação dos experimentos em batelada na extração com agitador magnético.

## 5.5 Modelagem da extração em coluna

A partir desta seção é descrita a modelagem matemática do processo de extração em coluna, primeiramente sem a recirculação do solvente e posteriormente com a recirculação total do solvente a partir do tanque de bombeamento. O modelo-simulador descreve a transferência de solutos em meios porosos submetidos a um escoamento uniforme em condições de saturação de

umidade. Uma discussão mais aprofundada do modelo é apresentada em Novy Quadri e Quadri (1996).

### 5.5.1 Modelo matemático para coluna sem recirculação do solvente

O modelo matemático foi desenvolvido aplicando-se o princípio de conservação da massa, descrito em um balanço diferencial para descrever o processo macroscópico de transferência unidirecional de um soluto de interesse submetido a um escoamento uniforme e em regime permanente no interior da coluna recheada (meio poroso). O ponto de partida para criação do modelo foi o trabalho apresentado por Coats e Smith (1964), que divide a fase líquida em duas frações: uma móvel, que escoar ao longo do leito e outra imóvel, composta por líquido estagnado que não compõe o escoamento. A partir deste ponto foi incluído no modelo o fenômeno de partição do soluto presente inicialmente na fase sólida, através da relação de distribuição tipo lei de potência:

$$s_m = K C_m^n; s_{im} = K C_{im}^n \quad (5.9)$$

onde, K e n são as constantes da relação de distribuição (considerada a mesma para as frações móvel e imóvel de líquido);  $C_m$  e  $C_{im}$  representam as concentrações de soluto [ML-3] nas frações móvel e imóvel, respectivamente;  $s_m$  e  $s_{im}$  são as concentrações mássicas de soluto remanescente [massa de soluto por massa de sólido], em contato com o líquido móvel e imóvel, respectivamente. Se a parcela dispersiva associada com a fração imóvel no balanço diferencial de massa de soluto for desprezível, através da adição as parcelas relativas ao transiente de extração, pode-se escrever:

$$\rho_{ap} f \frac{\partial s_m}{\partial t} + \rho_{ap} (1-f) \frac{\partial s_{im}}{\partial t} + \theta_m \frac{\partial C_m}{\partial t} + \theta_{im} \frac{\partial C_{im}}{\partial t} = D_m \theta_m \frac{\partial^2 C_m}{\partial z^2} - q \frac{\partial C_m}{\partial z} \quad (5.10)$$

onde:  $\rho_{ap}$  é a densidade aparente seca do meio [ML-3]; f é a fração de sítios de retenção do soluto sobre a fase sólida em contato com a fração de líquido móvel, t

é o tempo [T];  $\theta_m$  e  $\theta_{im}$  são as frações volumétricas de água móvel e imóvel respectivamente;  $D_m$  representa o coeficiente de dispersão hidrodinâmica [L<sup>2</sup>T<sup>-1</sup>],  $z$  é a coordenada espacial [L] e  $q$  é a velocidade de Darcy [LT<sup>-1</sup>].

No caso de troca de soluto entre as frações móvel e imóvel do líquido, assume-se uma cinética de primeira ordem e descreve-se a relação entre  $C_m$  e  $C_{im}$ , dada por:

$$\left[ \theta_{im} + \rho_{ap} (1-f) K_n C_{im}^{n-1} \right] \frac{\partial C_{im}}{\partial t} = \frac{3 K_{conv} \theta_{im}}{R} (C_m - C_{im}) \quad (5.11)$$

Neste caso,  $K_{conv}$  é o coeficiente convectivo de transferência de massa [L T<sup>-1</sup>] e  $R$  é o raio das partículas. Incorporando a Eq. 5.11, derivando-se a Eq. 5.9 com relação a  $t$  e fazendo a substituição na Eq. 5.10 e reagrupando-se os termos, levando em conta que  $q = \theta_m v$ , sendo  $v$  a velocidade média intersticial nos poros [L T<sup>-1</sup>], podemos escrever:

$$\left( \theta_m + \rho_{ap} f K_n C_m^{n-1} \right) \frac{\partial C_m}{\partial t} + \frac{3 K_{conv} \theta_{im}}{R} (C_m - C_{im}) = \theta_m D_m \frac{\partial^2 C_m}{\partial z^2} - \theta_m v \frac{\partial C_m}{\partial z} \quad (5.12)$$

Na construção do modelo que descreve a situação física de injeção de solvente em uma coluna finita de comprimento  $L$ , para escoamento permanente, são aplicáveis à Eq. 5.12, as seguintes condições:

Condição inicial:

Concentração de corante presente na coluna, uniforme e constante e igual a  $C_{ini}$ :

$$C_m = C_{im} = C_{ini} \quad \text{para } t = 0 \quad \text{e } \forall z \quad (5.13)$$

Condições de contorno:

Na entrada: a solução de solvente entra com concentração  $C_0$  e velocidade  $v$ , para tempos maiores do que zero.

$$vC_m - D_m \left. \frac{\partial C_m}{\partial z} \right|_{z=0^-} = vC_0 \quad \text{para } t > 0 \text{ e } z = 0 \quad (5.14)$$

Na saída: desconsiderando qualquer efeito de dispersão após a passagem na coluna e atendendo-se à condição de continuidade da variável  $C_m$ , tem-se:

$$\left. \frac{\partial C_m}{\partial z} \right|_{z=L^+} = 0 \quad \text{para } t > 0 \text{ e } z = L \quad (5.15)$$

O modelo matemático descrito pode ser resolvido adequadamente utilizando-se o método numérico de volumes finitos (PATANKAR, 1980). Todas as equações diferenciais são discretizadas, obtendo-se um sistema de equações algébricas lineares, as quais são resolvidas através do método clássico de solução de matrizes. A formulação implementada é totalmente implícita, com funções lineares de interpolação (QUADRI, 2004).

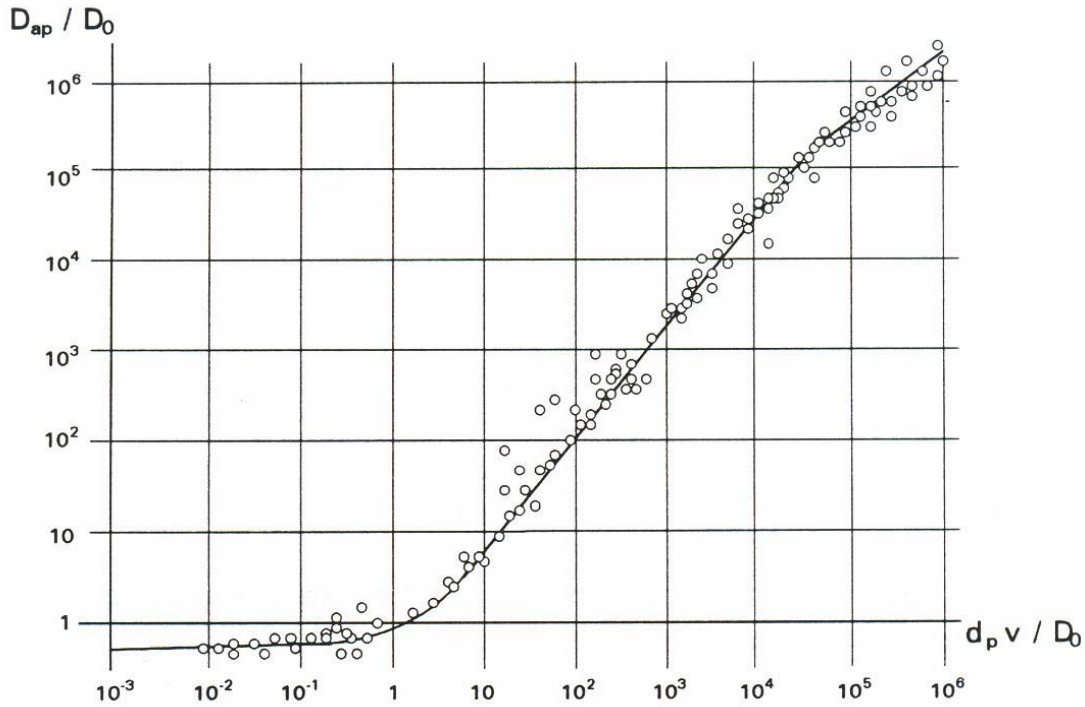
### 5.5.2 Simulação e ajuste para o modelo de extração em coluna sem a recirculação do solvente

As condições experimentais utilizadas durante os ensaios de extração em coluna sem a recirculação do solvente são apresentadas na Tab 5.7. Nestes ensaios de extração, o solvente foi o ácido acético 20% em volume (pH=2,0). Todos os ensaios em coluna foram conduzidos em temperatura ambiente, aproximadamente 25 °C. Os ensaios de extração utilizaram uma vazão de recirculação variável: 4 L h<sup>-1</sup>, 1 L h<sup>-1</sup> e 0,3 L h<sup>-1</sup>. No caso da vazão de 0,3 L h<sup>-1</sup>, foram verificadas duas condições: a extração com uma ou duas colunas acopladas em série. Para as vazões de 4 L h<sup>-1</sup> e 1 L h<sup>-1</sup>, não foi possível esgotar completamente o repolho roxo, mas a capacidade do modelo de prever o comportamento em regime transiente foi útil para estimar os parâmetros de transferência de massa do sistema estudado.

**Tabela 5.7** – Dados de entrada e parâmetros ajustados na extração em coluna sem recirculação do solvente.

<b>Condições experimentais</b>	4,0 L h <sup>-1</sup> 1 coluna	1,0 L h <sup>-1</sup> 1 coluna	0,3 L h <sup>-1</sup> 1 coluna	0,3 L h <sup>-1</sup> 2 colunas
<b>Valores conhecidos experimentalmente</b>				
Comprimento do leito (cm)	25	25	25	50
$K_f$	1,5286	1,5286	1,5286	1,5286
$n_f$	0,8042	0,8042	0,8042	0,8042
Velocidade de poro (cm s <sup>-1</sup> )	0,4978	0,1244	0,0373	0,0373
Densidade aparente seca (g mL <sup>-1</sup> )	0,4293	0,4293	0,4293	0,4293
Umidade do meio	0,7970	0,7970	0,7970	0,7970
Concentração de soluto na fonte (mg mL <sup>-1</sup> )	1 E-08	1 E-08	1 E-08	1 E-08
Concentração de soluto na fase móvel (mg mL <sup>-1</sup> )	1 E-08	1 E-08	1 E-08	1 E-08
Fração de água móvel	0,3962	0,3962	0,3962	0,3962
Raio das partículas do leito	0,3081	0,3081	0,3081	0,3081
Concentração inicial de soluto na fase imóvel (mg mL <sup>-1</sup> )	0,5528	0,5528	0,5528	0,5528
Área transversal da coluna (cm <sup>2</sup> )	7,0686	7,0686	7,0686	7,0686
<b>Parâmetros ajustados na simulação</b>				
Coefficiente de dispersão (cm <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> )	0,80	0,30	0,06	0,06
Coefficiente convectivo de transferência de massa (cm s <sup>-1</sup> )	7 E-05	4 E-05	3 E-05	2 E-05
Biot de massa	21,6	12,3	9,2	6,2

Para a operação em coluna, o valor do coeficiente de dispersão hidrodinâmica foi estimado pelo gráfico da Fig. 5.5, que relaciona a variação do coeficiente de dispersão aparente em função do número de Peclet molecular (PFANNKUCH, 1963). Nestes experimentos o valor do coeficiente de difusividade molecular foi considerado igual ao estimado para o ensaio em batelada (1 10<sup>-6</sup> cm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup>). O número de Peclet molecular compõe o eixo horizontal e é calculado pela razão entre o produto do diâmetro da partícula e a velocidade de poro e a difusividade molecular. No eixo vertical do gráfico é lido o valor da razão entre o coeficiente de dispersão aparente e a difusividade molecular. O coeficiente de dispersão aparente no interior da coluna representa o efeito de mistura que ocorre devido ao fluxo do solvente externo às partículas e é uma variável sensível à geometria do leito poroso e ao tipo de escoamento no espaço interparticular.



**Figura 5.5** – Avaliação do coeficiente de dispersão hidrodinâmica.

Fonte: Pfannkuch (1963).

Todos os valores apresentados para os parâmetros foram obtidos experimentalmente para o repolho roxo, porém como o leito da coluna contém as pérolas de vidro, estes foram corrigidos pelas equações 5.16 a 5.19, levando-se em conta a presença destas partículas. As correções introduzidas preservaram a massa inicial de corante e o volume ocupado pelo leito de partículas. Antes das simulações foi realizada uma análise de sensibilidade paramétrica, de natureza qualitativa, para verificar a robustez dos dados informados no entorno das correções. Com este procedimento foram validadas as correções propostas nos parâmetros do modelo.

$$v = \frac{Q}{A \varepsilon_{\text{leito}}} \quad (5.16)$$

$$\rho_{\text{ap}} = \frac{(m_{\text{rep}}(1 - X_R) + m_{\text{esf}})}{A L_{\text{leito}}} \quad (5.17)$$

$$X_{\infty} = \varepsilon_{\text{leito}} + X_R \left( 1 - \varepsilon_{\text{leito}} - \frac{V_{\text{esf}}}{V_{\text{leito}}} \right) \quad (5.18)$$

$$\theta_m = \frac{\varepsilon_{\text{leito}}}{X_{\infty}} \quad (5.19)$$

onde:  $v$  velocidade intersticial;  
 $Q$  vazão de recirculação ( $L^3 T^{-1}$ );  
 $A$  área da seção transversal da coluna ( $L^2$ );  
 $\rho_{ap}$  densidade aparente seca ( $M L^{-3}$ );  
 $m_{rep}$  massa de repolho roxo (M);  
 $m_{esf}$  massa de esferas (M);  
 $X_R$  umidade do repolho roxo;  
 $X_{\infty}$  umidade do meio;  
 $V_{esf}$  volume ocupado pelas esferas ( $L^3$ );  
 $V_{leito}$  volume do leito ( $L^3$ );  
 $\theta_m$  fração de água móvel;

A densidade aparente seca (Eq. 5.17) foi calculada somando a massa de repolho seco e a massa de esferas e dividindo-se pelo volume do leito fixo de partículas. A umidade do meio representa o volume ocupado pela água em condição de saturação de líquido no leito, ou seja, sem espaço vazio para ser ocupado por moléculas gasosas. A Eq. 5.18 representa a fração de vazios do leito, mais a fração de volume ocupada pelo líquido intraparticular do repolho.

Um dos parâmetros otimizados nos experimentos foi o coeficiente convectivo de transferência de massa ( $K_{conv}$ ). Ao aumentar a vazão do sistema, o valor de  $K_{conv}$  aumentou, indicando uma redução na resistência externa à transferência de massa, comportamento este que está de acordo com a teoria empregada na análise.

Os valores encontrados para o  $K_{conv}$  em coluna são, dimensionalmente, até uma ordem de grandeza menor do que os valores ajustados para o processo de extração em batelada, o que significa que existe um aumento na resistência

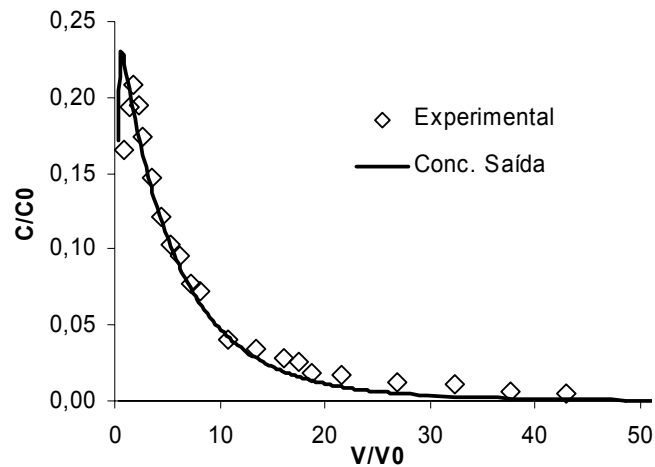


convectiva ao fluxo de transferência de corante para o processo em coluna e conseqüentemente uma diminuição no Biot de massa. O coeficiente de difusão molecular foi o mesmo nos dois casos e o raio das partículas foi de 0,2735 cm na extração em batelada e 0,3180 na extração em coluna para levar em conta a presença das esferas de vidro no leito. Com o aumento do raio das partículas foi disponibilizada uma maior área superficial para transferência de massa. Para manter a continuidade do fluxo mássico na superfície era esperado que o valor do  $K_{conv}$ , aumentasse para induzir uma diminuição na resistência externa, re-equilibrando o fluxo na superfície.

Na extração em coluna sem recirculação do solvente a etapa reguladora do processo continuou sendo a difusão do soluto intraparticular, segundo a análise do número de Biot.

Durante as simulações foi verificada a capacidade do modelo para ajustar-se aos dados experimentais. A Fig. 5.6 apresenta o resultado para uma das simulações realizadas. A escala das abcissas apresenta a razão entre o volume de solvente que deixa a coluna e o volume de poro (espaços vazios) no interior da coluna. A escala das ordenadas representa a razão entre a concentração de soluto na saída da coluna e a concentração inicial de soluto na fase imóvel (fase líquida do leito de extração).

Os resultados da simulação para o processo de extração em coluna sem recirculação do solvente mostraram que o valor do Biot de massa para a operação em coluna é próximo daquele obtido para a extração em batelada, no entanto a operação sem recirculação do solvente mostrou-se dispendiosa, em função do volume de solvente gasto. A utilidade deste procedimento foi quantificar a concentração total de soluto presente no repolho roxo e possibilitar o ajuste dos parâmetros experimentais antes de estudar a situação mais complexa que contempla a recirculação do solvente até atingir o equilíbrio de transferência de massa entre as fases.



**Figura 5.6** – Simulação da extração em coluna sem recirculação do solvente, para a vazão de  $0,3 \text{ L h}^{-1}$ , com uma coluna.

Uma comparação final dos processos extrativos (batelada e coluna com recirculação) é apresentada no item 5.5.5.

### 5.5.3 Modelo matemático para coluna com recirculação do solvente

Para o caso de operação da coluna com recirculação total do solvente que deixa a coluna, o modelo sofre uma alteração na condição de contorno na entrada da coluna (Eq. 5.14). A concentração na entrada da coluna é igual à concentração no reservatório de solvente (Eq. 5.20). É incluída no modelo uma Equação adicional relativa ao balanço de massa no reservatório de diluição (recirculação) do solvente, onde ocorre o bombeamento do solvente (Eq. 5.21):

Condição na entrada da coluna:

$$vC_m - D_m \left. \frac{\partial C_m}{\partial z} \right|_{z \rightarrow 0^+} = vC_{\text{res inst}} \quad ; \quad z = 0 \quad ; \quad t > 0 \quad (5.20)$$

onde, a partir de um balanço de massa, temos:

$$A v C_m|_{z=L} - A v C_{res} = V_{res} \frac{dC_{res}}{dt} \quad (5.21)$$

Para a implementação computacional é necessário separar as variáveis e fazer a integração, pois assim é obtida a variação da concentração do corante presente no reservatório a cada passo de tempo.

Separando as variáveis:

$$A v \int_{t=0}^{t=t_{inst}} dt = V_{res} \int_{C_{res}=C_{ini}}^{C_{res}=C_{res\ inst}} \frac{dC_{res}}{(C_m|_{z=L} - C_{res})} \quad (5.22)$$

Fazendo a integração para entre o tempo  $t=0$  e o tempo  $t = t_{inst}$ :

$$\frac{A v}{V_{res}} t_{inst} = \int_{C_{res}=C_{ini}}^{C_{res}=C_{res\ inst}} \frac{dC_{res}}{(C_m|_{z=L} - C_{res})} \quad (5.23)$$

onde  $v$  velocidade intersticial ( $LT^{-1}$ );

$C_{res}$  concentração no reservatório de recirculação ( $M L^{-3}$ );

$A$  área da seção transversal da coluna ( $L^2$ );

$V_{res}$  volume de líquido acumulado no reservatório de recirculação em regime permanente ( $L^3$ );

$C_{ini}$  concentração inicial na fase móvel e no reservatório ( $M L^{-3}$ ).

A concentração no reservatório ( $C_{res\ inst}$ ) para um certo tempo  $t_{inst}$  somente poderá ser determinada ao se conhecer  $C_m|_{z=L}$  que é obtido pela solução da Equação diferencial parcial estabelecida para o domínio da coluna. A partir da condição inicial em  $t=0$ ;  $C_{res\ inst} = C_{ini}$  é possível resolver o problema através de sucessivos incrementos de tempo.

### 5.5.4 Simulação e ajuste para o modelo de extração em coluna com recirculação do solvente

Nas simulações dos experimentos com recirculação do solvente foram traçadas curvas para acompanhar o perfil de concentração no sólido e na fase móvel dentro da coluna em função da posição, a evolução da concentração na saída da coluna e a evolução da concentração no reservatório do solvente, testadas 3 vazões de recirculação: 0,3, 6,0 e 10,0 L h<sup>-1</sup> e 4 relações de massa de repolho roxo por volume de solvente recirculado: 0,15, 0,20, 0,25 e 0,30 g mL<sup>-1</sup>, em duplicatas. Os dados de entrada do modelo de simulação e os parâmetros ajustados nos experimentos são mostrados na Tab. 5.8.

**Tabela 5.8** – Dados de entrada e parâmetros otimizados na simulação para a extração em coluna com recirculação do solvente.

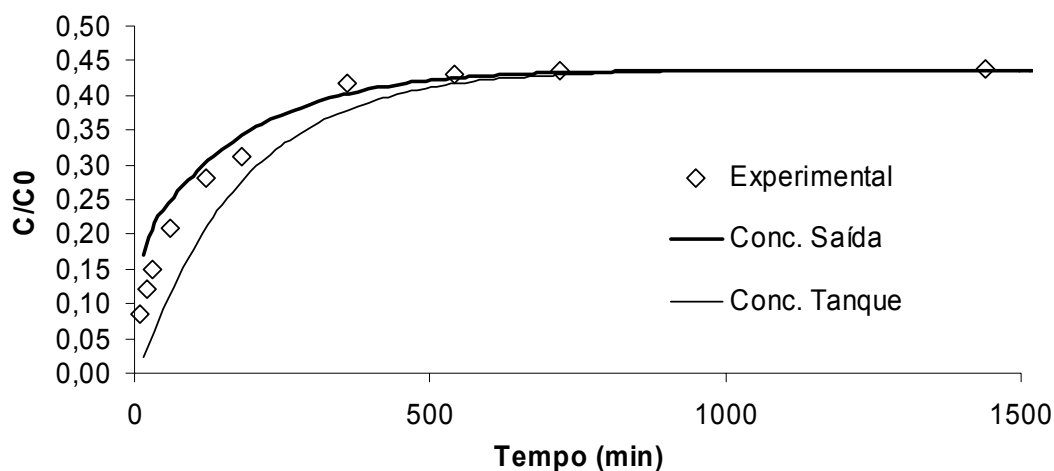
Dados de entrada	Independente da vazão			
Relação MR/VS (g mL <sup>-1</sup> )	0,15	0,20	0,25	0,30
$K_+$	1,5286	1,5286	1,5286	1,5286
$n_+$	0,8042	0,8042	0,8042	0,8042
Comprimento do leito (cm)	48,2	50,0	48,2	50,0
Densidade aparente seca (g mL <sup>-1</sup> )	0,4293	0,4293	0,3727	0,3727
Umidade do meio	0,7970	0,7970	0,8162	0,8162
Concentração de soluto na fonte (mg mL <sup>-1</sup> )	1 E-08	1 E-08	1 E-08	1 E-08
Concentração de soluto na fase móvel (mg mL <sup>-1</sup> )	1 E-08	1 E-08	1 E-08	1 E-08
Fração de água móvel	0,3962	0,3962	0,3962	0,3962
Raio das partículas do leito	0,3081	0,3081	0,3081	0,3081
Concentração inicial de soluto na fase imóvel (mg mL <sup>-1</sup> )	0,5529	0,5528	0,5080	0,5080
Diâmetro da coluna (cm)	3,0	3,0	4,8	4,8
Volume de líquido no reservatório durante recirculação (mL)	792,4	588,4	924,6	724,6
Área da seção transversal da coluna (cm <sup>2</sup> )	7,0686	7,0686	18,0956	18,0956
Vazão igual a 0,3 L h <sup>-1</sup>				
Velocidade de poro (cm s <sup>-1</sup> )	0,0373	0,0373	0,0373	0,0373
Coefficiente de dispersão aparente (cm <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> ) *	0,06	0,06	0,03	0,03
Coefficiente convectivo de transferência de massa (cm s <sup>-1</sup> ) *	5 E-06	5 E-06	5 E-06	5 E-06
Biot de massa	1,5	1,5	1,5	1,5
Vazão igual a 6,0 L h <sup>-1</sup>				
Velocidade de poro (cm s <sup>-1</sup> )	0,7466	0,7466	0,2917	0,2917
Coefficiente de dispersão aparente (cm <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> ) *	1,0	1,0	0,7	0,7
Coefficiente convectivo de transferência de massa (cm s <sup>-1</sup> ) *	9 E-06	9 E-06	7 E-06	5 E-06
Biot de massa	2,8	2,8	2,2	1,5
Vazão igual a 10,0 L h <sup>-1</sup>				
Velocidade de poro (cm s <sup>-1</sup> )	1,2444	1,2444	0,4861	0,4861
Coefficiente de dispersão aparente (cm <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> ) *	2,0	2,0	0,9	0,9
Coefficiente convectivo de transferência de massa (cm s <sup>-1</sup> ) *	1 E-05	1 E-05	9 E-06	8 E-06
Biot de massa	3,1	3,1	2,8	2,5

\* Parâmetros otimizados na simulação

Na simulação dos dados experimentais foi observado que para a vazão de recirculação de 0,3 L h<sup>-1</sup> existe uma diferença sensível entre a evolução das concentrações de soluto presente na saída e na entrada da coluna nos instantes

iniciais da extração, como pode ser visto na Fig. 5.7; porém, para vazões maiores ( $6,0$  e  $10,0 \text{ L h}^{-1}$ ), esta diferença se mostrou praticamente imperceptível nas curvas simuladas. Este fenômeno ocorre porque para vazões maiores, o solvente entra em contato mais vezes com o leito fixo da coluna, diminuindo o tempo necessário para recircular um volume de solvente igual ao volume do tanque de solvente, equalizando assim mais rapidamente as duas concentrações de soluto.

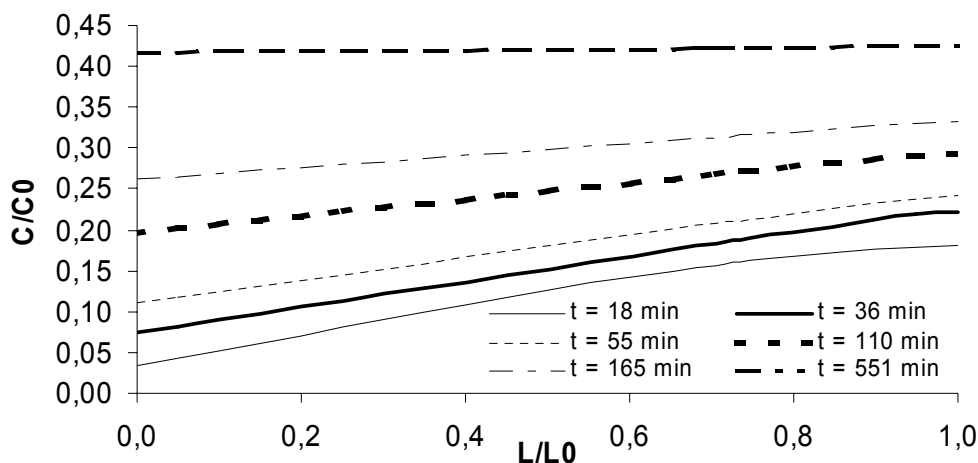
A Fig. 5.7 ilustra a evolução das concentrações de corante na saída da coluna e no tanque de recirculação para a relação MR/VS de  $0,25 \text{ mg mL}^{-1}$ , evidenciando a diferença de concentração quando a vazão é relativamente baixa.



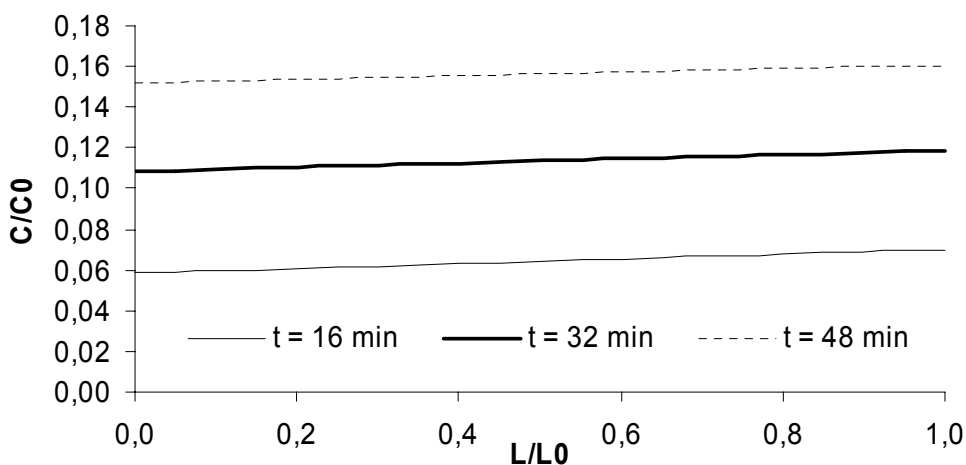
**Figura 5.7** – Evolução da concentração na saída da coluna e no reservatório de solvente para a vazão de recirculação de  $0,3 \text{ L h}^{-1}$  e MR/VS de  $0,25 \text{ mg mL}^{-1}$ .

Na Fig. 5.8 são mostrados os perfis de concentração no interior da coluna para este mesmo experimento em diferentes tempos de simulação. O valor de  $C/C_0$  na posição  $L/L_0$  igual a zero representa a concentração no tanque de recirculação e o valor de  $C/C_0$  na posição  $L/L_0$  igual a um representa a concentração na saída da coluna. Verifica-se que para um tempo de extração de 551 minutos a diferença observada entre as concentrações de entrada e saída da coluna é reduzida. A Fig. 5.9 foi construída mantendo-se a mesma relação MR/VS da Fig. 5.8, mas a vazão de recirculação foi aumentada para  $6,0 \text{ L h}^{-1}$ . Os perfis de

concentração no interior da coluna são próximos desde o início do processo extrativo, mesmo quando transcorridos apenas 16 minutos.



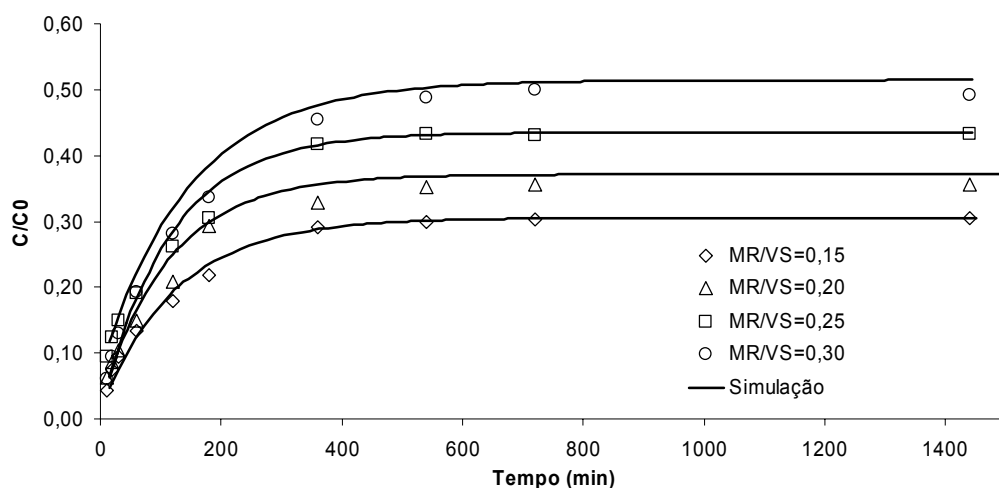
**Figura 5.8** – Perfil de concentração na fase móvel no interior da coluna de extração para vazão de  $0,3 \text{ L h}^{-1}$  e MR/VS de  $0,25 \text{ mg mL}^{-1}$ .



**Figura 5.9** – Perfil de concentração na fase móvel no interior da coluna de extração para vazão de  $6,0 \text{ L h}^{-1}$  e MR/VS de  $0,25 \text{ mg mL}^{-1}$ .

Durante o ajuste do modelo aos dados experimentais foram geradas várias curvas com a evolução da concentração de soluto na saída da coluna. Como exemplo, dois gráficos são mostrados nas Figuras 5.10 e 5.11.

A evolução da concentração que deixa a coluna de extração para quatro diferentes razões MR/VS, mantendo-se fixa a vazão de recirculação em  $6 \text{ L h}^{-1}$  é apresentada na Fig. 5.10.

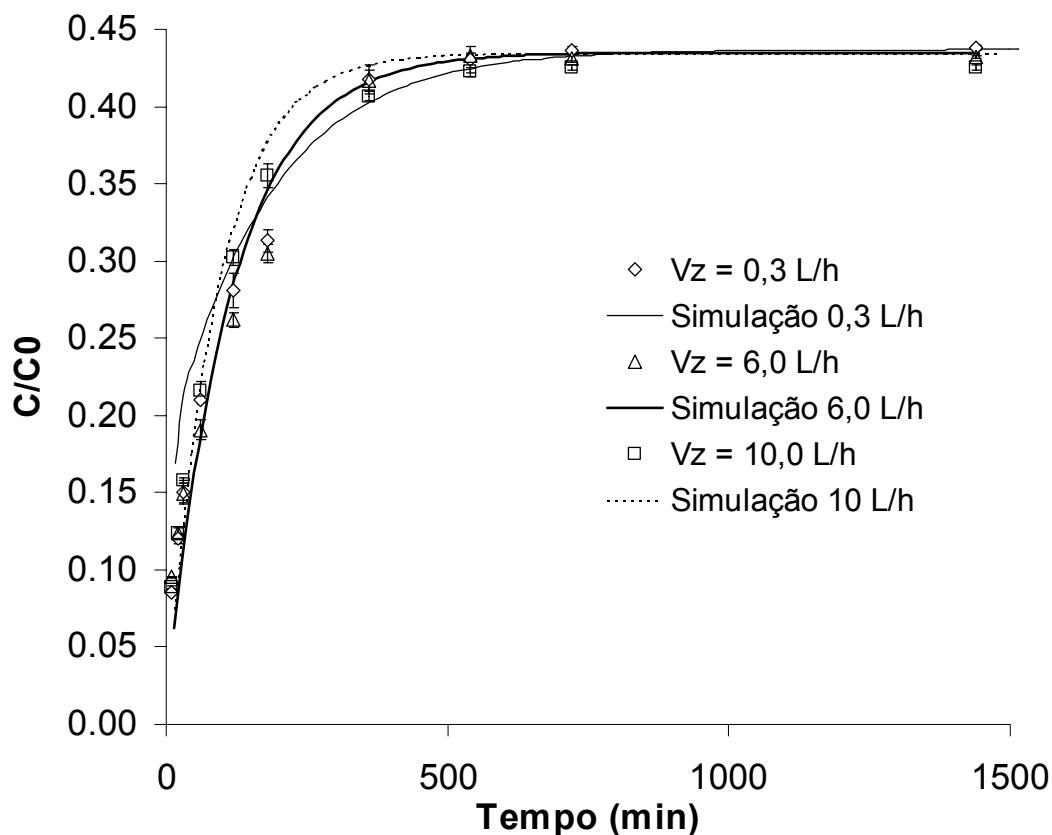


**Figura 5.10** – Simulação da extração em coluna sem recirculação do solvente para a vazão de  $6,0 \text{ L h}^{-1}$ , com diferentes razões MR/VS.

A Figura acima mostra que o equilíbrio final de extração é deslocado quando se altera a proporção sólido:líquido e como resultado a concentração final de corante na fase líquida é maior e mais próxima da concentração de corante presente inicialmente no líquido no interior da partícula em equilíbrio com a fase sólida.

Houve uma boa concordância entre as simulações e os dados experimentais evidenciando a capacidade do modelo implementado de prever adequadamente o comportamento da extração em coluna tanto em regime transiente como permanente.

Na Fig. 5.11, verifica-se a resposta do sistema frente à alteração na vazão de recirculação, mantendo-se constante a relação MR/VS em  $0,25 \text{ mg mL}^{-1}$ . A análise visual da Figura revela que o incremento na vazão não foi capaz de alterar significativamente a dinâmica de extração.



**Figura 5.11** – Simulação da extração em coluna sem recirculação do solvente para MR/VS de  $0,25 \text{ mg mL}^{-1}$  a diferentes vazões de recirculação.

Os resultados apresentados nas Figuras 5.10 e 5.11 estão de acordo com as conclusões do planejamento experimental relatado no item 4.4. A triagem das variáveis havia mostrado que a vazão de recirculação não era significativa para o processo extrativo, o que indicava já naquele momento que a resistência à transferência de massa era maior na etapa de difusão intra-particular. O deslocamento da condição ótima encontrada no planejamento estrela para uma região de operação mais ácida (ácido acético a 20% em volume) e o desenvolvimento de experimentos paralelos em batelada e em coluna de extração com a mesma relação MR/VS forneceu os subsídios necessários para comparar o desempenho dos dois processos de forma quantitativa (Item 5.5.5), destacando-se as principais vantagens e desvantagens de cada processo extrativo.



### **5.5.5 Comparação entre os processos de extração em batelada e em coluna com recirculação de solvente**

Os dois processos de extração estudados ao longo deste trabalho possuem características particulares de operação, controle de processo, flexibilidade e produtividade. O conhecimento destas características determina o uso da tecnologia, tendo em vista os objetivos e a escala proposta para a operação de extração.

Muitas empresas pequenas começam as suas atividades com processos em batelada e vão adquirindo experiência nos primeiros anos de atividade.

Quando as empresas conseguem crescer, expandindo o seu mercado, a competitividade exige uma elevada produtividade, a um custo otimizado e com uma qualidade diferenciada do produto.

A operação em coluna é um processo mais elaborado, que se adapta melhor às características de pronta ação no controle e manipulação das condições e variáveis do processo.

A coluna de leito fixo imobiliza as partículas em um volume compacto e fechado em contato com uma pequena fração do líquido de extração, enquanto que o solvente recirculado fica armazenado em um reservatório separado. Esta configuração permite controlar separadamente, se necessário, as condições de processo para as partículas e para o solvente. No processo em batelada, as partículas se encontram imersas no solvente em um reservatório único. Assim, por exemplo, se for desejado controlar a temperatura em que ocorre a extração, a coluna permite operar com temperaturas diferenciadas para o leito e para o reservatório, ao passo que em batelada é necessário fornecer ou retirar energia de todo o reservatório de mistura.

Nos casos em que a convecção é importante, em uma operação em batelada é necessário um agitador mais eficiente para permitir a homogeneização da solução e o contato adequado entre as partículas e o solvente; já em uma

operação em coluna, a função básica do agitador é homogeneizar o solvente no reservatório em um grau que evite a ocorrência de zonas estagnadas, enquanto que a mudança na velocidade de recirculação pode melhorar o transporte por convecção no leito. A configuração em coluna, neste sentido, costuma ser mais barata e flexível no controle do grau de contato solvente partícula.

Outra característica dos processos em coluna frente aos processos em batelada é que as colunas de extração são mais compactas, ocupando menor espaço, o que permite um melhor manuseio das matérias-primas, partículas, solventes e aditivos, que são alimentados continuamente ao processo.

Para comparar os tempos de extração nos processos em batelada e em coluna, analisou-se a evolução da relação  $C/C_e$ , onde, para os dois processos  $C$  é a concentração no reservatório de solvente e  $C_e$  é a concentração de equilíbrio obtida ao final de 24 horas de extração. A Tab. 5.9 e a Fig. 5.12 reúnem a informação acerca da média de 8 ensaios em coluna na vazão de 6 L/h e 24 ensaios de extração em batelada com *shaker* e agitador magnético.

**Tabela 5.9** – Evolução da relação  $C/C_e$  nos processos em coluna e em batelada.

Tempo (min)	Relação $C/C_e$		(A – B)
	Coluna (A)	Batelada (B)	
30	$0,27 \pm 0,027$	$0,31 \pm 0,028$	-0,04
60	$0,42 \pm 0,019$	$0,44 \pm 0,031$	-0,02
120	$0,64 \pm 0,027$	$0,59 \pm 0,031$	0,05
180	$0,77 \pm 0,029$	$0,68 \pm 0,029$	0,09
360	$0,95 \pm 0,017$	$0,83 \pm 0,023$	0,12
540	$0,99 \pm 0,007$	$0,90 \pm 0,018$	0,09
720	$1,00 \pm 0,002$	$0,94 \pm 0,014$	0,06
1440	$1,00 \pm 0,000$	$1,00 \pm 0,0000$	0,00

A Tab. 5.9 mostra que na primeira hora de extração, a dinâmica dos dois processos é equivalente, existindo uma sobreposição nas curvas, porém a partir deste ponto, a operação em coluna passa a ser mais eficiente.

Com o avanço do processo de extração, a massa de corante extraída é monitorada pela Eq. 5.24:

$$M_{\text{cor}}|_t = \frac{C|_t}{C_e} C_e V_{\text{solv}} \quad (5.24)$$

onde  $M_{\text{cor}}$  massa de corante extraída (M);

$C$  concentração de corante na fase líquida ( $\text{M L}^{-3}$ );

$C_e$  concentração de corante na fase líquida no equilíbrio ( $\text{M L}^{-3}$ );

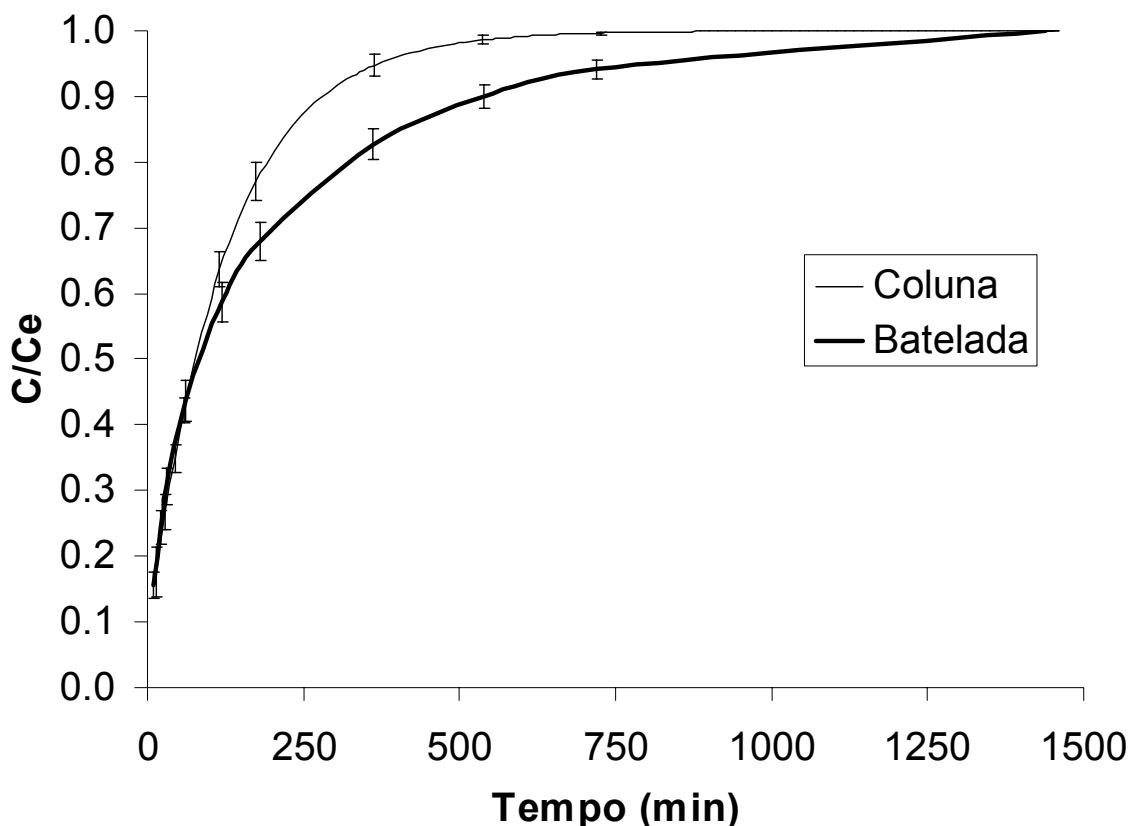
$V_{\text{solv}}$  volume total de solvente no sistema ( $\text{L}^3$ );

Os sistemas de extração em coluna e em batelada funcionam como sistemas fechados, os valores de  $C_e$  e  $V_{\text{solv}}$  permanecem constantes ao longo da extração, a Eq. 5.25 pode ser reescrita na forma linear:

$$M_{\text{cor}}|_t = \frac{C|_t}{C_e} A_{\text{prop}} \quad (5.25)$$

Devido à constante de proporcionalidade do sistema ( $A_{\text{prop}}$ ), um incremento de 10% no valor do avanço da extração ( $C/C_e$ ) é acompanhado de igual incremento na massa de corante extraído. Por analogia, a diferença no grau de avanço da extração dos dois sistemas para um dado tempo  $t$  representa a diferença percentual da massa de corante extraída entre os dois processos.

Na Fig. 5.12, podemos averiguar que após 360 minutos, a operação em coluna atinge 95% da concentração de equilíbrio e a operação em batelada 83%, neste tempo o percentual de massa adicional extraído pela coluna em relação à operação em batelada é de 12,0%. Comparativamente serão necessários 720 minutos (o dobro do tempo necessário pelo processo em leito fixo) para que o processo em batelada atinja 94% da concentração de equilíbrio.



**Figura 5.12** – Comparativo da evolução da concentração de corante para extração em coluna e em batelada.

Os resultados acima apontam para um ganho na produtividade ao se optar pela extração em coluna com reciclo. A operação em um processo industrial pode envolver a alimentação contínua de solvente ao reservatório e a retirada de solução com corante na tubulação de recirculação para purificação. A ação sobre a razão de reciclo auxilia a equalizar a concentração de corante próxima de um valor desejado para a industrialização das antocianinas extraídas. A otimização das ações de renovação do solvente, alteração da taxa de reciclo e retirada de produto podem ser otimizadas para garantir a qualidade desejável e minimizar o tempo de processamento mínimo ou o custo da operação.

## 6 CONCLUSÃO

O processo em coluna mostrou-se viável tendo em vista a eficiência do processo em fornecer uma corrente de solução concentrada de corante que pode ser facilmente integrada a uma planta de extração de antocianinas do repolho roxo.

Os processos de extração em coluna e em batelada são inerentemente diferentes, possuindo características próprias de operação, controle e rendimento, dependendo a escolha dos objetivos e da escala proposta para a operação de extração.

A operação em coluna é um processo mais dinâmico e flexível que o processo em batelada, permitindo uma maior rapidez no controle, através da atuação sobre as condições e variáveis do processo. Ao imobilizar as partículas no leito fixo e manter a maior parte do solvente no reservatório de recirculação é possível controlar separadamente as condições de processo para as partículas e para o solvente. O contato entre o solvente e o leito é proporcionado por bombeamento da solução do reservatório de recirculação, uma operação mais econômica do que a agitação mecânica de alta eficiência necessária em batelada. O aparato de extração em coluna é compacto, permitindo um bom manuseio das matérias-primas, partículas, solventes e aditivos, que são alimentados ao processo. Isto fica evidente quando se compara a razão massa de repolho úmido:volume de solvente para os dois sistemas; 0,50 para batelada e 1,25 para coluna, nos casos extremos.

Como fonte inicial de antocianinas se escolheu a cebola roxa, mas em função da grande instabilidade no extrato, independente do solvente testado, foi impossível caracterizar corretamente a concentração de corante no vegetal. A matéria-prima alternativa escolhida como fonte de antocianinas foi então o repolho roxo.

Os ensaios em batelada serviram para estabelecer as condições operacionais para o processo de extração. Neste trabalho foram determinados o pH de leitura da amostra do extrato de repolho roxo (3,0), o solvente de extração (ácido acético 10% em volume) e a relação MR/VS ( $0,25 \text{ mg mL}^{-1}$ ). Uma das vantagens associadas ao uso do ácido acético (vinagre) é a sua conhecida propriedade conservante sobre os alimentos.

Para quantificar a concentração de corante passível de extração pelo solvente no processo em coluna, foi realizado o experimento de esgotamento do corante pela passagem de solvente sem recirculação. A quantidade total de corante extraída foi de 1,70 mg de corante para cada g de repolho roxo.

Os resultados do planejamento experimental dos ensaios em coluna mostraram que os fatores significativos para o processo de extração contínuo são o pH de extração, o volume de solvente recirculado e a massa de repolho roxo. A condição ótima de operação encontrada foi pH igual a 2,3, um volume de solvente recirculado de 0,83 L e massa de repolho roxo de 47,9 g.

A modelagem e a simulação dos ensaios cinéticos realizados para a extração em batelada e em coluna mostraram que a resistência intra-particular relacionada à difusão do soluto é maior do que a resistência externa de natureza convectiva, na superfície da partícula.

A agitação do meio para o processo em batelada, ou o incremento na vazão de recirculação não produziu uma melhora significativa na velocidade de extração do soluto.

O processo em coluna é mais eficiente na dinâmica de extração do corante do repolho roxo. Após 360 minutos, a operação da coluna atinge 95% da concentração de equilíbrio e a operação em batelada 83%, refletindo 12% de massa de corante a mais extraído pela coluna, neste ponto. São necessários 720 minutos para que o processo em batelada atinja 94% da concentração de equilíbrio.

Como sugestão para trabalhos futuros seria interessante introduzir no modelo atual a possibilidade de controlar a renovação de solvente no tanque de recirculação e a retirada de parte do líquido da corrente de recirculação.

Um primeiro estudo possível seria simular a influência de uma taxa de reciclo fixa no processo, enquanto a operação for viável. Verificar-se-ia assim uma relação econômica entre o tempo de extração e o volume de solvente necessário em função da massa de corante extraída. Mantendo-se o volume de solvente recirculado constante, as bombas de recirculação trabalham sob um regime de operação uniforme, aumentando a vida útil dos equipamentos.

Uma segunda frente de estudo buscaria simular a implementação de um controle de processo que trabalhasse com a concentração de soluto no tanque de recirculação como variável controlada, tendo como variável manipulada a taxa de reciclo. Esta possibilidade permite trabalhar durante todo o tempo com uma concentração de corante uniforme no reservatório de solvente e volume de recirculado variável. Com uma concentração de corante uniforme, a operação de purificação do produto final é mais econômica.

Para otimizar o processo em coluna (diminuir o tempo de extração e a quantidade de solvente utilizado) talvez fosse interessante retirar a primeira fração de extrato (da primeira hora de extração, por exemplo) que é mais rica em soluto e só após este tempo seria feita a recirculação do solvente. Desta forma é possível diminuir a concentração média de soluto no solvente e aumentar a taxa de extração.

Em qualquer estudo proposto para a operação em coluna, a retirada de produto deve ser ajustada à necessidade de produção da planta de extração.

Na extração em batelada pode ser averiguado o efeito de se realizar três extrações em série ao invés de apenas uma de longa duração. O tempo de cada estágio de extração pode ser variável, buscando melhorar a eficiência do processo extrativo.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERTI-FIDANZA A.; COLI R.; FRUTTINI D.; MINIATI, E.; FIDANZA F., Intake of different phenolic compounds by groups of subjects living in Perugia area (Italy), **J. Total Environment**, v.8, n.2, p.225-251, 1996.
- ANDERSEN O.M.; CABRITA L.; FOSSEN T., Colour and stability of pure anthocyanins influenced by pH including the alkaline region, **Food Chemistry**, v.63, n.4, p. 435-440, 1998.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. **Planejamento Experimental e Otimização de Experimentos**, 2 ed., Campinas: Unicamp, 1996. 299 p.
- BOYLES M.J.; WROLSTAD R.E., Anthocyanin composition of red raspberry juice: influences of cultivar, processing, and environmental factors. **J Food Sci.** v. 58, p.1135-1141, 1993.
- BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C.F. Anthocyanins as natural food colours – selected aspects. **Food Chemistry**, v.58, n.1-2, p.103-109, 1997.
- BROUILLARD R.; WIGAND M.C.; DANGLES O.; CHEMINAT A., pH and solvent effects on the copigmentation reaction of malvin with polyphenols, purine and pyrimidine derivatives. **J. Chem. Soc. Perkin Trans.** v.2, p.1235-1241, 1991.
- BROUILLARD, R., The *in vivo* expression of anthocyanin colour in plants, **Phytochemistry**, v.22, p.1311–1323, 1983.
- BROUILLARD, R.; DELAPORTE, B., Chemistry of anthocyanin pigments, **J. Am. Chem. Soc.**, v.99, n.26, p.8461-8468, 1977.



- BROUILLARD, R.; IACOBUCCI, G.A.; SWEENEY J.G., Chemistry of anthocyanin pigments. 9. UV-visible spectrophotometric determination of the acidity constants of apigeninidin and three related 3-deoxyflavylium salts, **J. Am. Chem. Soc.**, v.104, n.26, p.7585-7590, 1982.
- COATS, K.H.; SMITH, B.D., Dead-end pore volume and dispersion in porous media. **Petrol. Eng. J.**, v.4, n.1, p.73-84, 1964.
- COUTINHO, M.R., **Obtenção de antocianinas em pó provenientes do repolho roxo (*Brassica oleracea*)** 2002, 80 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.
- DANGLES O.; SAITO N.; BROUILLARD R., Kinetic and thermodynamic control of flavylium hydration in the pelargonidin-cinnamic acid complexation. Origin of the extraordinary flower color diversity of *Pharbitis nil* , **J. Am. Chem. Soc.**, v.115, p.3125- 3132, 1993.
- DASH A.; CHIGURUPATI A.N.; SAIKI A.L.; GAYSER JR, B.C.; ALEKHA K., Evaluation of red cabbage dye as a potential natural color for pharmaceutical use, **International Journal of Pharmaceutics**, v.241, p.293–299, 2002.
- FERRERES, F.; GIL, M. I.; TOMÁS-BARBERÁN, F.A., Anthocyanins and flavonoids from shredded red onion and changes during storage in perforated films, **Food Research International**, v.29, n.3-4, p. 389-395, 1996.
- FRANCIS, F.J., in: **Polyphenolic Phenomena**, ed. A. Scalbert, INRA editions, Paris, 1993, p.209-220.
- FRANCIS, F.J., Food Colorants: anthocyanins, **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v.28, n.4, p.273-314, 1989.

- GAO, L.; MAZZA, G., Extraction of anthocyanin pigments from purple sunflower hulls, **J. Food Sci.**, v.61, p.600–603, 1996.
- GORSEL, H.; LI, C.; KERBEL, E.L.; SMITS, M.; KADER, A.A., Compositional characterization of prune juice, **J. Agric. Food Chem.**, v.40: p.784–789, 1992.
- HARBORNE, J.B.; GRAYER, R.J., The anthocyanins. In: **The flavonoids: advances in research since 1980**. Chapman & Hall, London, 1988, p. 1-20.
- HARBORNE, J.B., The flavonoids: recent advances, in: **Plant Pigments**, Academic Press, London, 1988, p.298–343.
- HEREDIA, F.J.; FRANCIA-ARICHA, E.M.; RIVAS-GONZALO, J.C.; VICARIO, I.M.; SANTOS-BUELGA, C., Chromatic chaterization of anthocyanins from red grapes-I. PH effect, **Food Chemistry**, v.63, n.4, p.491-498, 1998.
- HILTON, B.W.; LIN, R.I.; TOPOR, M.G., Processed anthocyanin pigment extracts, Patente americana 4,320,009, 1982.
- HRAZDINA, G.; IREDALE, H.; MATTICK, L.R. Anthocyanin composition of Brassica oleracea cv. Red Danish. **Phytochemistry**, v.16, n.2, p.297-299, 1977.
- IACOBUCCI G.A.; SWEENEY J.G., The chemistry of anthocyanins, anthocyanidins and related flavylum salts. **Tetrahedron**, v.39, p. 3005-3038, 1983.
- IDAKA, E., Aciled anthocyanins from red cabbage, Patente japonesa 62,209,173, 1987.

- IKEDA, K.; KIKUZAKI, H.; NAKAMURA, M.; NAKATANI, N., Structure of two aciled anthocyanins from red cabbage (*Brassica oleracea*), **Chemistry Express**, v.2, n.9, p.563-566, 1987.
- INETI – Instituto Nacional de Engenharia e Tecnologia Industrial, **Processo de preparação de concentrados da baga de sabugueiro e outras matérias primas vegetais para utilização como corante em produtos alimentares, cosméticos e farmacêuticos**, Patente Portuguesa 98517B, 1994.
- JACKMAN, R.L.; YADA, R.Y.; TUNG, M.A.; SPEERS, R.A., Anthocyanins as food colorants. - A Review. **J. Food Biochem.** v.11, p.201-247, 1987.
- KOBAYASHI, K.; MATSUTOMI, N.; ONISH, K., Anthocyanin pigments and their stabilization with anionic surfactants, Patente japonesa 63,218,767, 1988.
- KOES, R.; QUATTROCCHIO, R.; MOL, J., The flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution. **BioEssays** v.16, p.123-132, 1994.
- KUHNAU, J., The Flavonoids. A class of semi-essential food components: Their role in human nutrition. **World Rev. Nutr. Dietet.** V.24, p.117-191, 1976.
- LACHMAN, J.; PIVEC, V.; KAKIR, T.; REHAKOVA, V., Anthocyanins in the Mars and Vysocke varieties of red cabbage and their stability. **Potravin. Vedy**, v.9 n.4, p. 87-94, 1991.
- LOPES, R.M.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J.; PINTO, A.S., Flavonóides, **Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento**, v. 3, n.14, p.18-22, 2000.
- LOPES, T.J., **Adsorção de Antocianinas de Repolho Roxo em Argilas** 2002, 125f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.

- LÓPEZ O.P.; JIMÉNEZ A.R.; VARGAS F.D.. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains – characteristics, biosynthesis, processing, and stability, **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v.40, n.3, p.173-289, 2000.
- MANO, S.; MIYAZAWA, K.; TEZUKA, T., **Anthocyanin colors from red cabbage**. Patente japonesa 02,173,070, 1990.
- MANO, S.; TEZUKA, T.; TOMIKANEHARA, T., **Anthocyanin red pigment extraction from plants coloring of foods**. Patente japonesa 63,270,766, 1988.
- MANTELL C.; RODRIGUEZ M.; MARTINEZ DE LA OSSA, E., Semi-batch extraction of anthocyanins from red grape pomace in packed beds: experimental results and process modeling **Chemical Engineering Science** v.57, p.3831–3838, 2002.
- MARKAKIS, P. **Anthocyanins as Food Colors**. London: Academic Press, 1982. 261p.
- MAZZA, G.; BROUILLARD, R. Recent Developments in the Stabilization of Anthocyanins in Food Products. **Food Chemistry**, v.25, p. 207-225, 1987.
- MAZZA, G.; MINIATI, E., **Anthocyanins in Fruits, Vegetables, and Grains**. CRC Press, London, 1993, 362 p.
- MORITTA, T. ; VIEGAS, R.M. **Manual de Soluções e Reagentes e Solventes**. 2 ed., Editora Edgar Blücher, 1995, p 274-275.
- NAKATANI, N.; IKEDA, K.; NAKAMURA, M.; KIKUZAKI, H., Structure of diacyled anthocianins from red cabbage (*Brassica oleracea*). **Chemistry Express**, v.2, n.9, p. 555-558, 1987.

- NASATTO, F.C.L.; NOVY QUADRI, M.G.; QUADRI, M.B., **Estabilidade da Antocianina de Cebola (*Allium cepa*) ao Oxigênio e à Luz**, Anais do II Simpósio em Ciência de Alimentos - Alimentos e Saúde. Florianópolis: UFSC, 2003, v.1, p.346-349.
- NISHIMURA, M.; WASHINO, K.; HORIKAWA, Y., **Copigmentation of anthocyanins**, Patente japonesa 02,99,563, 1990.
- NOVY QUADRI, M.G.; QUADRI, M.B., 1996. **“Um Modelo para o Transporte de Solutos Através de Meios Porosos Tendo em Vista Diferentes Tipos de Interação com a Matriz Sólida”**. Anais do 10º Encontro Brasileiro sobre Adsorção, p.267-274. Imprensa Universitária UFC – Fortaleza –CE.
- NOVY QUADRI, M.G., **Transferts de solutés dans lês sols satures et non satures: application au pentachorophénol**, 1993 204 f. These (Dotorat-LTHE): Universite Joseph Fourier- Grenoble I, Grenoble-France.
- ONISH, K.; KOTAKE, K., **Stabilization of anthocyanins with sugars**, Patente japonesa 63,43, 1988.
- PATANKAR, S.V., **Numerical Heat Transfer and Fluid Flow**. Hemisphere Publishing Corporation. New York. 1980.
- PETERSON, J.; DWYER J. Flavonoids: Dietary occurence and biochemical activity. **Nutrition Research**, v.18, n.12, p.1995-2018, 1998.
- PFANNKUCH, H.O. Contribution à l`etude des déplacements des fluids miscibles dans um milieu poreux. **Revue de l’Institut Français du Pétrole**, v.18, n.2, p.1-54, 1963.
- QUADRI, M.B., 2004. Comunicação pessoal. E-mail: m-quadri@enq.ufsc.br.

- SAITO, N.; KU, M.; TATSUZAWA, F.; LU, T.S.; YOKOI, M.; SHIGIHARA, A.; HONDA, T., Acylated cyanidin glycosides in the purple-red flowers of *Bletilla striata*, **Phytochemistry**, v.40, p.1521–1529, 1995.
- SANTOS, F.B.F., **Obtenção de cebola seca utilizando pré-tratamento por desidratação osmótica em mistura de solutos** 1998. 105f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC.
- SHRIKHANDE, A.J., **Extraction and intensification of anthocyanins from grape pomace and other material**, Patente americana 4,452,822, 1984.
- SLACK, N., Vantagem Competitiva em Manufatura: atingindo competitividade nas operações industriais, São Paulo, Atlas, 1993, 198 p.
- SONDHEIMER, E.; KERTESZ, Z.I. Anthocyanins pigments. **Analitical Chemistry**, v.20, n.3, p.245-248, 1948.
- SWAIN, T; BATE-SMITH, E.C., **Flavonoid Compounds**. In: Florkin, M.; Mason, H. S., Eds, Comparative Biochemistry Vol. III: Constituents of Life. Part A, Academic Press, New York, 1962, p.755–809.
- TAMURA, I.; INAMA, O.; KONDO, Y.; MIYAGAWA, Y, **Purification of anthocyanin pigments**, Patente japonesa 04,154,771, 1992.
- WASHINO, K.; MORIWAKI, M., **Stabilization of anthocyanins**, Patente japonesa 02,214,780, 1990.

---

YOKOYAMA, I.; ONO, T., **Process for extracting anthocyanin-type colors from natural products**, Patente americana 4,302,200, 1981.